

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1938-1939

N° 28

Recherches botaniques
et chimiques
sur le
Leucaena glauca Benth.
(Mimosées)

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 19 juin 1939

PAR

André OTTENWAEOLDER

Pharmacien

Lauréat (Médaille d'Or) de la Faculté de Pharmacie

Ex-interne et Lauréat des Hôpitaux de Paris

JURY } MM. MASCRÉ, Président.
BACH, Professeur.
JANOT, Maître de Conférences.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1939

RECHERCHES BOTANIKES ET CHIMIQUES
SUR LE
LEUCÆNA GLAUCA Benth. (Mimosées)

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1938-1939

N° 28

Recherches botaniques
et chimiques
sur le
Leucæna glauca Benth.
(Mimosées)

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 19 juin 1939

PAR

André OTTENWAELDER

Pharmacien

*Lauréat (Médaille d'Or) de la Faculté de Pharmacie
Ex-interne et Lauréat des Hôpitaux de Paris*

JURY

} MM. MASCRÉ, Président.
BACH, Professeur.
JANOT, Maître de Conférences.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS



ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, Doyen, O. *, § I.
 P. LEBEAU, Assesseur, O. *, § I., Membre de l'Institut
 H. J. LIONNET, Secrétaire, § I.

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. *, § I., Membre de l'Institut..	Pharmacie chimique.
GORIS, O. *, § I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. *, § I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, § I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, § I.	Chimie organique.
LUTZ, *, § I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, § I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, § I.	Zoologie.
DELABY, *, § I.	Chimie analytique.
PICON, *, § I.	Physique.
MASCRE, § I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, *, § I.	Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. *, § I. — GUERIN, O. *, § I.

Professeurs honoraires :

MM. BEHAL, G. O. *, § I. et DELEPINE, O. *, § I., Membres de l'Institut,
 PERROT, C. *, § I., COUTIERE, O. *, § I., BOUGAULT, O. *, § I.
 et TASSILY, O. *, § I.

MAITRES DE CONFERENCES

FLEURY, § A.	Hydrologie et Hygiène.
BEDEL, § I.	Minéralogie, Législation et Dénatologie pharmaceutiques.
REGNIER, § I.	Parasitologie.
CHARONNAT, § I.	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT	Pharmacie galénique et biologie végétale.
VALETTE, § A.	Microbiologie.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, travaux pratiques de 1 ^{re} année....	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, § A., trav. prat. de 2 ^e et 3 ^e années.	Chimie analytique.
PARIS	Micrographie.
CORRIEZ	Physique.
GUILLLOT, travaux pratiques de 4 ^e année	Chimie biologique, Bromatologie, et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, § A.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. MASCRÉ
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

Qui a inspiré le sujet de ce travail
et a bien voulu présider le Jury de cette
thèse.

*En témoignage de profonde reconnais-
sance et de respectueux attachement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BACH
*Professeur de Botanique à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux de Paris*

Hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR M.-M. JANOT
*Maître de Conférences
à la Faculté de Pharmacie de Paris*

Bien respectueux hommage.

A MA FEMME

A MON FILS

A MES PARENTS

En témoignage de profonde affection.

A MES BEAUX-PARENTS

MEIS ET AMICIS

RECHERCHES BOTANIKES ET CHIMIQUES
SUR LE
LEUCÆNA GLAUCA Benth. (Mimosées)

INTRODUCTION

Le *Leucæna glauca* Benth. est employé en agronomie coloniale comme plante d'ombrage et de couverture, comme fourrage et comme engrais vert. M. le Professeur Em. PERROT, ayant reçu d'Indochine une certaine quantité de graines de *Leucæna*, en confia l'étude à M. le Professeur MASCRÉ, qui en retira le leucænol et voulut bien nous charger de faire l'étude des constituants de la graine.

Nous publions ici les résultats de cette étude. Il ne nous échappe pas que, sur certains points, elle demande encore quelques compléments. Nous avons poursuivi aussi loin qu'il nous était possible, dans les limites de temps dont nous disposions, la séparation des divers principes immédiats appartenant aux groupes des glucides, des lipides, des protides, la caractérisation et le dosage des diverses formes de phosphore, le dosage des éléments minéraux, mis en évidence les diastases de la graine. Nous croyons que ce travail complète heureusement les données encore rudimentaires que l'on possédait sur la composition de la graine de *Leucæna glauca*.

C'est pour nous un agréable devoir d'adresser ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance à M. le Professeur MASCRÉ, qui nous a donné, pendant nos années d'internat, les preuves d'une bienveillante sympathie à laquelle nous sommes très sensible.

Nous adressons nos remerciements respectueux à M. le Professeur BACH et à M. JANOT, Maître de Conférences, qui ont bien voulu nous faire l'honneur de faire partie de notre jury de thèse.

M. J. COURTOIS, pharmacien de l'Hôpital Lariboisière, nous a dirigé dans l'étude des composés phosphorés et des phosphatases de la graine de *Leucæna*. Notre camarade, R. PARIS, chef de travaux à la Faculté, nous a fréquemment donné de précieux conseils. M. H. CANAL nous a guidé dans l'étude des matières grasses. Nous avons mis à profit l'érudition et l'inépuisable complaisance de M. le Docteur R. WEITZ. A tous, nous adressons nos très sincères remerciements.

Nous les adressons aussi à M. E. MIÈGE, Directeur du Centre de Recherches agronomiques de Rabat, à M. l'Inspecteur général de l'Agriculture, de l'Elevage et des Forêts, à Hanoï, à M. A. ROME, planteur à Zang-Khoai par Quang-Tri (Annam), qui nous ont envoyé des matériaux d'étude.

Nous avons suivi, dans l'exposé de notre travail, le plan ci-contre :

PREMIERE PARTIE : Généralités.

CHAPITRE PREMIER. — Le genre <i>Leucæna</i> Benth	7
CHAPITRE II. — Etude botanique du <i>Leucæna glauca</i> Benth	13
CHAPITRE III. — Les utilisations du <i>Leucæna glauca</i>	18
CHAPITRE IV. — Recherches chimiques sur <i>Leucæna glauca</i>	27

DEUXIEME PARTIE : Recherches personnelles.

CHAPITRE PREMIER. — Recherches histologiques	34
CHAPITRE II. — Etude du mucilage et des sucres . .	46
CHAPITRE III. — Etude des glycérides et des stérols	67
CHAPITRE IV. — Etude des protides	81
CHAPITRE V. — Etude des substances phosphorées	92
CHAPITRE VI. — Etude des éléments minéraux	101
CHAPITRE VII. — Etude des diastases	109
CONCLUSIONS	125
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	129

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS



FIG. I. --- Un plant de *Leucæna glauca* L.
(Photogr. Em. MIÈGE, à Rabat.)

CHAPITRE PREMIER

LE GENRE *LEUCÆNA* Benth.

Le genre *Leucæna* a été créé en 1842, par BENTHAM (1), d'après des plantes originaires des régions chaudes de l'Amérique.

Il appartient aux Légumineuses, sous-famille des Mimosées. Assez voisin des genres *Mimosa* et *Acacia*, il a longtemps été confondu avec ceux-ci, mais il s'en distingue par certains caractères de son organisation florale.

Le tableau suivant (1) que nous avons établi en nous inspirant de différents botanistes, permet de faire ressortir la place exacte de ce genre parmi les Mimosées.

MIMOSÉES : Fleurs régulières ou subrégulières, le plus souvent pentamères, à préfloraison valvaire.

I. Calice à préfloraison imbriquée, à dents courtes, anthères introrsées, peu nombreuses, surmontées d'une glande caduque : *Parkies.*

II. Calice à préfloraison valvaire.

1° Androcée formé de nombreuses étamines soudées ou libres ; pétales soudés en une corolle campanulée : *Acacia, Albizzia, Enterolobium, Pithecolobium.*

2° Androcée isostémone ou diplostémone :

a) Anthères surmontées d'une glande. Graine albuminée : *Adenantha, Entada, Neptunia.*

b) Anthères surmontées d'une glande. Graine sans albumen : *Piptadenia.*

c) Anthères non surmontées d'une glande :

(1) G. BENTHAM. — Notes on Mimoseae, In : W. J. HOOKER'S, *Journal of Botany*, 1842, 4, page 416.



FIG. II. -- Une branche fleurie de *Leucæna glauca* L.
(Photogr. Em. MIÈGE, à Rabat.)

- α) Etamines au nombre de 4 à 8; fleurs du type 4;
gousse se divisant à la maturité en articles :

Mimosa.

- β) Etamines au nombre de 10; fleurs du type 5.
Fruit ligneux; une paire de pétioles secondaires :

Xylia.

Fruit mince non ligneux; pétioles secondaires
4 paires et plus :

Stigmate en massue, sous-arbrisseau :

Desmanthus.

Stigmate capité, arbre ou arbuste : *Leucæna.*

Les espèces du genre *Leucæna* sont des arbustes ou des arbres dépourvus d'épines, à feuilles bipennées, dont la première paire de pétioles secondaires porte à sa partie inférieure une glande, qui d'ailleurs manque quelquefois. Les folioles, en nombre pair, sont disposées obliquement ; elles sont tantôt petites et très nombreuses, tantôt en petit nombre, mais plus grandes.

Les fleurs, blanches, se groupent en capitules globuleux, à pédoncule axillaire. Deux bractées se trouvent placées sous le capitule ou à la partie supérieure du pédoncule. Construites sur le type 5, sessiles, les fleurs sont, pour la plupart, hermaphrodites.

Le calice, campanulé, présente cinq dents courtes.

La corolle est composée de cinq pétales libres, valvaires.

L'androcée est représenté par dix étamines libres ou très peu soudées à la base, à filet flexueux, très accrescent, à anthère allongée ou globuleuse, souvent couverte de poils (fig. III), sans glande terminale et renfermant de nombreux grains de pollen.

Le gynécée se compose d'un ovaire allongé, pédiculé, surmonté d'un style filiforme et d'un stigmate court et tubuleux. On trouve à l'intérieur de nombreux ovules.

Le fruit est une gousse aplatie, rectiligne, coriace, déhiscente, à deux valves (fig. IV) et à une seule loge renfermant de nombreuses graines disposées obliquement, aplaties, allongées, un peu atténuées à la base, et de couleur brun marron.

Les *Leucæna* se rapprochent donc à la fois, par leurs caractères, des *Acacia* et des *Mimosa*.

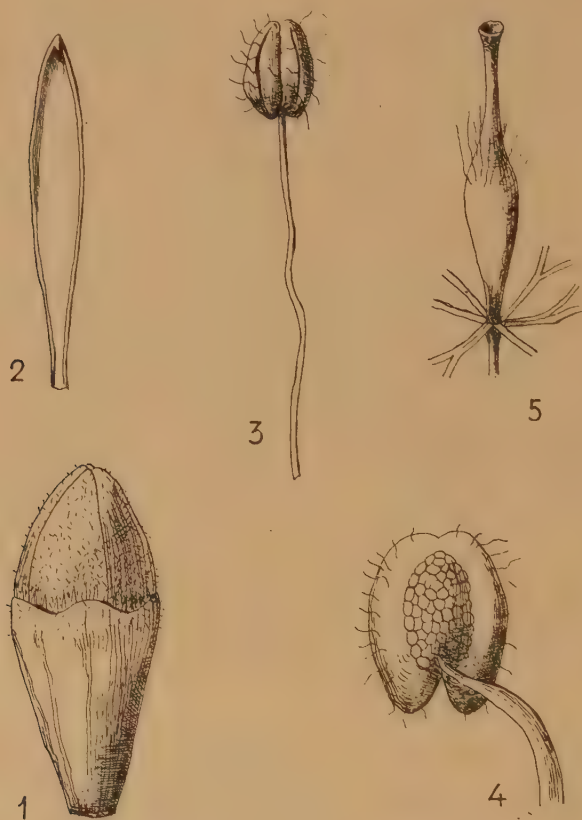


FIG. III. — Organisation florale du *Leucæna glauca* L.

1. Bouton floral (Gr. = 12,5).
2. Un pétale (Gr. = 10).
3. Une étamine (Gr. = 12,5).
4. Anthère, vue de dos, avec connectif chagriné (Gr. = 25).
5. Ovaire jeune, avec pédicule et amorce des filets staminaux (Gr. = 12,5).

(D'après F. GAGNEPAIN,

Flore générale de l'Indochine, II, p. 74.)

Ainsi que le signale BENTHAM, ils diffèrent du *Piptadenia Niopis*, dont ils sont voisins, par leur calice plus grand,

des pétales plus petits, des anthères non glanduleuses, un fruit aplati.

En 1842, lorsqu'il créa le genre, BENTHAM n'y comprenait que quatre espèces :



FIG. IV — Un groupe de fruits de
Leucæna glauca L.
récolté en Indochine (réduit des 3/5^{es})

Leucæna diversifolia, du Mexique ;

Leucæna glauca, régions tropicales en général ;

Leucæna pulverulenta, du Mexique ;

Leucæna trichodes, du Pérou.

En 1894, l'*Index Kewensis* mentionne neuf espèces ; aux quatre précédentes, il en ajoute en effet cinq autres, égale-

ment définies par BENTHAM : *Leucæna canescens*, *L. esculenta*, *L. Forsteri*, *L. macrophylla* et *L. retusa*.

Enfin, en consultant tous les Suppléments du même Index, nous avons pu relever un total de quarante-cinq espèces, dont quarante-trois sont originaires de l'Amérique tropicale :

L. diversifolia Benth., *L. esculenta* Benth., *L. macrophylla* Benth., *L. pulverulenta* Benth., *L. cuspidata* Standley, *L. macrocarpa* Rose, *L. plurijuga* Stand., *L. Schannoni* Donn. Smith, *L. brachycarpa* Urb., *L. glabrata* Coult. et Rose, *L. laxifolia* Urb., *L. microcarpa* Coult. et Rose, *L. confusa* Britt. et Rose, *L. Cruziana* Britt. et Rose, *L. Doylei* Britt. et Rose, *L. Dugesiana* Britt. et Rose, *L. Honghii* Britt. et Rose, *L. Nelsonii* Britt. et Rose, *L. nitens* M. E. Jones, *L. oaxacana* Britt. et Rose, *L. pallida* Britt. et Rose, *L. Palmeri* Britt. et Rose, *L. paniculata* Britt. et Rose, *L. pseudotrichoides* Britt. et Rose, *L. pubescens* Britt. et Rose, *L. pueblana* Britt. et Rose ; *L. Purpusii* Britt. et Rose, *L. Rekoï* Britt. et Rose, *L. lanceolata* S. Wats., *L. revoluta* Britt. et Rose, *L. sinaloensis* Britt. et Rose, *L. sonorensis* Britt. et Rose, *L. stenocarpa* Urb., *L. Dregii* S. Wat., qui sont plus spécialement originaires du Mexique.

L. Olei Harms, du Brésil,
L. trichodes Benth. du Pérou,
L. boliviana Rusby de Bolivie,
L. retusa Benth. du Texas,
L. salvadorensis Standley, *L. Standleyi* Britt. et Rose du San-Salvador,
L. canescens Benth., *L. guatemalensis* Britt. et Rose du Guatemala,
L. Blancii Goyena du Nicaragua.

Une seule espèce est originaire des Iles du Pacifique, c'est le *L. Forsteri* Benth.

Parmi toutes ces espèces « quelques-unes encore mal connues auraient les graines comestibles : *L. esculenta* Benth., *L. pulverulenta* Benth. (2) ».

(2) Aug. CHEVALIER. — Les Mimosées arborescentes pour l'ombrage des cultures tropicales. *Rev. de Botan. appl.*, 1924, 4, pp. 677-678.

CHAPITRE II

CARACTERES DU *LEUCÆNA GLAUCA* Benth.

NOMS VULGAIRES : Tamarin bâtard, Tamarin sauvage, Monval, Macatta (Antilles);

Mimosa, Tamarin sauvage, Tamafin des hauts, Cassie blanc, Gros Cassie (Réunion);

Wild Tamarin, Horse Tamarin, West India lead tree, White Popiniac (Afrique tropicale);

Lamtoro, Lomtoro (Java);

Lamtoro, Lomtoro, Cay Keo, Sambuor meas te (Indochine);

Ipel (Philippines).

Répartition géographique.

Le *L. glauca* provient probablement de l'Amérique tropicale et des Antilles, mais il est aujourd'hui répandu dans tous les pays chauds du globe (Afrique française, Inde, Indochine, Philippines), d'où il a même été propagé par la culture en Chine, à la Réunion, etc...

On le trouve actuellement dans les régions suivantes :

AMÉRIQUE : Antilles (Bahamas, Jamaïque, etc...),

Guyane anglaise (région du Demerara),

Brésil, Pérou (BENTHAM).

AFRIQUE TROPICALE : Afrique occidentale (OLIVER, Aug. CHEVALIER, HUTCHINSON et DALZIEL),

Fernando Po (T. VOGEL),

Kordofan (KOTSCHY),

Ile Maurice.

ASIE : Inde, Ceylan, Java, Chine.

Introduit ultérieurement à la Réunion (DE VILLÈLE), en Nouvelle-Calédonie (RISBEC), à Hawaï, à Formose, aux Philippines, au Siam, dans les cinq provinces de l'Indochine (LECOMTE et GAGNEPAIN). Parfois cultivé dans les jardins botaniques de l'Europe méditerranéenne et de l'Afrique du Nord.

Description de l'espèce.

On peut trouver dans la Flore générale de l'Indochine la description suivante du *L. glauca*, faite par M. F. GAGNEPAIN (3) :

« *Arbuste* ou arbre de 1 à 4 m., rameux dès la base. *Rameaux* subanguleux, finement velus. *Feuilles* à stipules très petites et caduques ; pétiole commun long de 12 à 20 cm., terminé par un mucron sans foliole, renflé à sa base, muni d'une glande au-dessous de la première paire de pétioles secondaires, velu, à poils courts et couchés ; les pétioles secondaires, 4 à 8 paires, longs de 3 à 10 cm., les inférieurs plus courts, tous terminés par une arête sans foliole, velus à poils courts ; folioles 12 à 18 paires presque sessiles et falciformes, inégalement atténuées à la base, acuminées au sommet, ciliées sur les bords, longues de 10 à 15 mm., larges de 3 à 4 mm., les inférieures et supérieures ordinairement les plus petites ».

Ces folioles, aussi sensibles que celles de la Sensitive (*Mimosa pudica* L.), sont animées de mouvements sous l'influence de la lumière et de la sécheresse (4).

« *Inflorescence* : pédoncules longs de 4 à 6 cm., solitaires ou par deux, finement velus ; tête de 12 à 14 mm. avant la floraison, formée de fleurs blanches et nombreuses.

(3) F. GAGNEPAIN, in : H. LECOMTE. Flore générale de l'Indochine. Paris, II, 1908, pp. 74-75.

(4) Frank C. GATES. — Xerofotic movements in leaves. *Botanical Gazette*, 1916, 61, pp. 339-407.

Calice pubescent au sommet, dents arrondies ou peu aiguës, ciliées.

Pétales : au nombre de cinq, linéaires, atténués longuement à la base, longs de 4 mm., velus finement en dehors.

Étamines : 10; filets adhérents irrégulièrement entre eux à la base, insérés très bas sur le pédicule de l'ovaire ; anthères elliptiques, portant quelques longs poils ; connectif granuleux sur le dos.

Ovaire pédiculé, pubescent, réduit dans les fleurs inférieures ; style aussi long que l'ovaire, glabre ; ovules : 24, bisériés.

Le *fruit* est une gousse longue de 13 à 14 cm., large de 15 mm., terminée par un bec aigu et dur, long de 5 à 7 mm., pédiculée graduellement sur 2 à 3 cm. Elle est aplatie, rectiligne, à péricarpe rigide s'ouvrant en deux valves.

Graines : 15-20, peu saillantes, disposées obliquement, longues de 7 mm., larges de 4 mm., plates, lisses, marron, très dures, elliptiques, un peu atténuées à la base ».

Récemment, M. E. DE WILDEMAN a rappelé qu'à la floraison abondante du *L. glauca*, s'oppose un manque de fructification. Ce fait avait déjà été remarqué en 1912 par le Docteur P.-J. CRAMER, mais il n'avait pas été pris en considération et c'est depuis peu seulement qu'il a attiré l'attention des planteurs (5).

La graine et sa germination.

La graine de *Leucæna glauca* constituant l'organe soumis à nos investigations, c'est maintenant son étude qui nous retiendra presque exclusivement.

Les graines, au nombre de 15 à 20, dans une gousse, ont un peu l'aspect de grosses graines de Lin. Longues de 7 mm., larges de 4 mm., plates, lisses, elliptiques, un peu

(5) Em. DE WILDEMAN. — La théorie de l'hybridation et J. P. LOTSY (1867-1931). *Rev. de Botan. appl.*, mars 1934, 14, p. 203.

atténuées à la base, elles présentent un tégument épais, de couleur marron ; après un contact suffisamment prolongé avec l'eau, le tégument, par gonflement d'une couche mucilagineuse, se sépare facilement de l'amande ; celle-ci est de couleur jaune.

Leur odeur est nulle.

Comme de nombreuses graines de Légumineuses, elles germent de façon excessivement lente et irrégulière. Le Docteur J. MAAS (6) a pu définir chez diverses autres espèces, le pourcentage des bonnes graines : il atteint seulement 29 à 55 %, selon les espèces. D'après cet auteur, ce ne sont pas les graines qui présentent le plus bel aspect qui sont les plus aptes à germer, bien au contraire. Cette question de la germination a été étudiée en raison de son importance pour la multiplication de plantes aussi utiles que les Légumineuses. Elle se pose évidemment aussi pour le *L. glauca*, de plus en plus préconisé dans nos colonies comme plante d'ombrage et fourragère.

Il faut, pour faciliter cette germination, user l'enveloppe de la graine à l'endroit où la radicule et la jeune tige doivent passer. Pour arriver à ce résultat, il existe deux moyens : le traitement par les acides concentrés, tels que SO^4H^2 , et le traitement par l'eau chaude (7).

PRILLWITZ, étudiant l'action de l'acide SO^4H^2 sur quelques espèces de graines de Légumineuses, indique que le *L. glauca*, comme le *Tephrosia Vogelii* et le *Crotalaria usaramensis* s'accommode le mieux d'une immersion de vingt minutes dans l'acide sulfurique à 95 p. 100. Il est bon de remuer les graines plusieurs fois pendant cette opération et de les semer le plus tôt possible, car ainsi traitées, elles ne gardent plus longtemps leur faculté germinative (8).

(6) J. MAAS. — Kiemproeven met zaden van verschillende groenbemesters. Mededeel. Alg. Proefstation A. V. R. O. S., Alg. serie, N° 27, p. 1026.

(7) Docteur J. MAAS. — Loc. cit.

(8) P. M. PRILLWITZ. — Behandeling van Leguminosenzaden met zwavelzuur (Traitement des graines de Légumineuses par l'acide sulfurique). *De Thee*, 1926, 7, pp. 136-143, In : *Rev. de Botan. appl.*, 1928, 8, p. 83.

Nous avons utilisé une technique plus simple, consistant à traiter les graines par l'eau chaude. Les graines étant placées sur un tamis, verser de l'eau très chaude, puis laisser tremper quelques jours dans de l'eau maintenue tiède à l'étuve à 37°. Les graines, au bout de ce temps, commencent à gonfler, prennent une teinte plus foncée et germent rapidement ; semées dans du terreau, elles lèvent à l'air libre, au bout de six jours.

Dans les serres de la Faculté de Pharmacie, des arbustes provenant de graines mises à germer de cette façon, ont atteint en dix mois une hauteur de 1 m. à 1 m. 25.

CHAPITRE III

LES UTILISATIONS DU *LEUCÆNA GLAUCA* Benth.

Emplois en agriculture.

La répartition très étendue du *Leucæna glauca* est due pour une bonne part au fait qu'il a été vulgarisé depuis une cinquantaine d'années, en agriculture tropicale, comme arbuste d'ombrage, plante brise-vent, comme plante de reboisement, engrais vert et plante fourragère.

C'est en général aux Légumineuses que l'on s'adresse pour ces derniers usages, car elles présentent, par rapport aux Graminées, l'avantage d'enrichir le sol en azote.

Parmi les Légumineuses ainsi utilisées, le *L. glauca* occupe maintenant une des premières places, et de nombreux agronomes ont attiré l'attention sur ses qualités, en insistant spécialement pour que son emploi se répande de plus en plus dans nos colonies.

En 1924, M. le Professeur Aug. CHEVALIER, étudiant les Mimosées arborescentes pour l'ombrage des cultures tropicales, parle longuement du *L. glauca* (1).

M. RIGOTARD (2), en 1932, fait dans *L'Agronomie coloniale* un rapport très détaillé sur les différents emplois du *Leucæna glauca* en agriculture, dans de nombreuses régions chaudes du globe.

(1) Aug. CHEVALIER. — Les Mimosées arborescentes pour l'ombrage des cultures tropicales. *Revue de Botan. appl.*, 1924, 4, pp. 677-678.

(2) M. RIGOTARD. — Une Légumineuse tropicale, *Leucaena glauca* et son utilisation. *L'Agronomie coloniale*, juin 1932, 21, pp. 198-202.

A. — Arbuste d'ombrage et plante brise-vent.

Comme arbre d'ombrage, il est utilisé surtout dans les plantations de caféiers et de théiers.

A Ceylan ⁽³⁾, on l'apprécie au même titre que l'*Erythrina lithosperma* Blume et même que le *Gliricidia maculata* H. B. et K. Les caféiers plantés sous son ombrage présentent une belle végétation.

A Java, on l'utilise dans ce but concurremment avec un *Albizzia* ⁽⁴⁾. On l'emploie encore en Angola ⁽⁵⁾, à la station de Cao-Traï (Annam) et dans diverses plantations de l'Indochine, associé avec le *Crotalaria striata* Schrank ou de préférence avec l'*Erythrina*. M. J. LEGROS ⁽⁶⁾ l'indique aussi comme très employé en Guinée, pour ombrager les caféiers.

En Indochine, où la plante semble d'introduction assez récente, MM. ROME ⁽⁷⁾ et FRONTOU ⁽⁸⁾ la recommandent vivement pour former des haies brise-vent, en association avec les *Erythrina*. « Cet arbuste, dit M. ROME, a littéralement sauvé de la ruine certaines plantations du Sud-Annam ». Quant à M. FRONTOU, il donne toutes indications utiles pour l'emploi du « lamtoro », l'espacement à donner aux pieds, de façon à avoir un ombrage léger, mais aussi continu que possible, etc...

Dès 1924, le Professeur Aug. CHEVALIER écrivait ⁽⁹⁾ :
« C'est, de toutes les Mimosées, celle dont nous recom-

(3) T. H. HOLLAND. — *Ceylon Agriculture Department*, 1922.

(4) W. BALLY. — Sur la culture comparative du Caféier d'Arabie et du Caféier Robusta à Java. *Revue de Botan. appl.*, 1932, 12, pp. 596-598.

(5) P. JEANSSENS. — Le café Robusta dans l'Angola. Bruxelles, 1930, et : *Revue de Botan. appl.*, 1930, 10, pp. 762-763.

(6) J. LEGROS. — Le café dans les possessions françaises. *Revue Internat. d'Agric.*, Rome, 1937, 28, N° 6, pp. 166 et 172 T.

(7) A. ROME. — Aperçus sur la culture du Caféier en Indochine Française. *Revue de Botan. appl.*, 1935, 15, pp. 525-531.

(8) G. FRONTOU. — La culture du caféier en Annam. *L'Agronomie coloniale*, mai 1937, 26, N° 223, pp. 142-145.

(9) A. CHEVALIER. — Les Mimosées arborescentes pour l'ombrage des cultures tropicales. *Revue de Botan. appl.*, 1924, 4, pp. 677-678.

mandons la multiplication en premier lieu comme arbuste d'ombrage. Le *L. glauca* peut vivre presque partout, aussi bien dans les régions arides du Sénégal, où il ne tombe pas d'eau pendant huit mois, que dans les régions équatoriales où il pleut presque constamment, dans les régions les plus chaudes sous l'équateur thermique et sur les montagnes tropicales à 1.500 m. d'altitude, où le climat est tempéré. Cette plante peut être maintenue à l'état gazonnant au ras du sol si on la taille comme le Buis ; au contraire, si on la laisse croître, elle peut devenir en deux ou trois ans un petit arbre de 5 m. à 8 m. de haut ».

En même temps, le *L. glauca* contribue à assurer le reboisement et à préserver les terrains en pente de l'érosion par les pluies. A Java, pour lutter contre l'érosion dans les plantations de café, on établit des haies de « lomtoro », plantées perpendiculairement à la pente et on les taille périodiquement ⁽¹⁰⁾. Aux Philippines, il rend de grands services dans le même but. De même, en Erythrée ⁽¹¹⁾, où on l'associe généralement avec l'*Acacia mollissima* Willd.

Son emploi est encore signalé au Congo belge, à la Station agricole de Lula, à Stanleyville, etc...

On a également indiqué l'utilisation du *L. glauca* comme plante d'ombrage dans certaines plantations d'Ananas, comme à Anuradhapura (Ceylan), où son ombrage léger a permis d'obtenir des fruits plus gros, mais moins sucrés et juteux que ceux mûris en plein soleil ⁽¹²⁾.

Essayé comme plante d'ombrage pour les plantations de *Cinchona Ledgeriana* Moens, dans l'Inde et dans l'Ou-

(10) A. CHEVALIER. — Lutte contre l'érosion et conservation de la fertilité des sols dans les plantations de caféiers. *Revue de Botan. appl.*, avril 1937, 17, pp. 292-293.

(11) F. BRIZIOLI. — Plante da remboschimento, copertura dei terreni e sovescio per la regione delle pendici orientali dell' Eritrea. *Revue de Botan. appl.*, 1930, 10, pp. 774-775.

(12) (Anonyme). — Recent trials with Pineapples. *Revue de Botan. appl.*, 1928, 8, p. 87.

ganda, il s'est montré peu adaptable à ces régions et nettement inférieur à *Gliricidia maculata* H. B. et K.

Il a été signalé, cependant, que le *Leucæna glauca*, comme d'autres Légumineuses porte-ombrage, peut servir d'hôte à divers parasites animaux ou végétaux, en particulier, au *Ferrisia virgatus* ou « pou du lamtoro », qui, en Malaisie, est nuisible au Caféier ⁽¹³⁾.

A Hawaï et aux îles Fidji, les tiges de *Leucæna* sont attaquées par un Hémiptère, le *Lecanium longulum* ⁽¹⁴⁾.

Enfin, en Côte d'Ivoire ⁽¹⁵⁾ et en Nouvelle-Calédonie ⁽¹⁶⁾, le *Leucæna glauca* est atteint par des pourridiés, — en Côte d'Ivoire, c'est le *Fomes (Polyporus) lignosus* Klotzch, — qui attaquent aussi le collet des Caféiers et autres arbustes.

B. — Engrais vert.

Là où il est utilisé comme plante d'ombrage, le *L. glauca* donne également, si on le taille abondamment, un bon engrais vert. Les Légumineuses ont en effet un pouvoir fertilisant bien connu. Mais cette utilisation du *L. glauca* n'est pas celle à laquelle on doit s'attacher, car on obtient plus de satisfaction avec de nombreuses autres Légumineuses : *Vigna*, *Crotalaria*, *Indigofera*, *Canavalia*, *Centrosema*, etc... ; sa germination n'est pas assez régulière pour couvrir rapidement le terrain.

On l'a cependant essayé en Afrique occidentale et il a été très apprécié aux Indes néerlandaises.

Ch. BERNARD, insistant sur l'utilité des engrais verts en

(13) H. BEGEMANN. — Beschädigungen der Kaffeepflanzen durch Schildläuse. *Der Tropenpflanzer*, 1930, 33, p. 203.

(14) P. DE SORNAY. — Les plantes tropicales industrielles et alimentaires de la famille des Légumineuses. Paris, 1913, p. 462.

(15) A. MALLAMAIRE. — Sur quelques pourridiés en Côte d'Ivoire. *Revue de Botan. appl.*, 1935, 15, p. 605.

(16) J. RISBEC. — Les parasites du Caféier en Nouvelle-Calédonie. *L'Agro-nomie coloniale*, oct. 1936, 25, N° 226, pp. 105-109.

agriculture, comme agents de l'amélioration chimique des sols, indique l'emploi du *L. glauca* en Indochine (17).

Un peu plus tard, BLONDELEAU et ROCHETTE (18) ont rendu compte d'essais effectués à la Station expérimentale du Palmier à huile à La Mé (Afrique occidentale française). Le *L. glauca*, comme le *Tephrosia candida* et le *Cajanus indicus*, s'est montré convenable pour une couverture de durée, mais lente à se former, alors que pour une couverture plus rapide, il est préférable de s'adresser à d'autres Légumineuses, comme les *Crotalaria* ou les *Vigna*.

De même, dans les plantations de caoutchouc (*Hevea*) de Malaisie, on fait, en terrain incliné, de petits talus plantés de Légumineuses, à la fois pour fixer les terres et pour les enrichir en azote ; les espèces employées sont des *Crotalaria*, des *Tephrosia* et le *Leucæna glauca* (19).

C. — Plante fourragère.

Le *L. glauca* est un excellent fourrage. P. DE SORNAY, en 1913, insiste tout particulièrement sur la haute valeur fourragère du *L. glauca* à l'île Maurice ; les champs de *Leucæna* y forment de très bons pâturages (20).

Le Professeur A. CHEVALIER, ayant constaté combien le *L. glauca* est utilisé à Java, a essayé de le propager dans toutes les colonies françaises et spécialement en Indochine. M. E. GIRARD, Directeur des Plantations de Suzannah et Anloc (Cochinchine) lui écrivait à ce sujet : « Le Lamtoro fait tache d'huile ici... L'analyse le classe parmi les

(17) Ch. J. BERNARD. — Les engrais verts dans les cultures tropicales. *Bull. Econom. de l'Indochine*, déc. 1927, 30, pp. 958-959.

(18) BLONDELEAU et ROCHETTE. — Sur les essais de plantes de couverture effectués à la Station expérimentale du Palmier à huile. *Bull. Mensuel de l'Agence Econom. de l'A. O. F.*, 10^e année, N^o 99, 1929, pp. 77-85.

(19) R. R. MAY. — Remarques sur le rajeunissement des vieilles plantations de caoutchouc. *Revue de Botan. appl.*, avril 1934, 14, p. 288.

(20) P. DE SORNAY. — Les Plantes tropicales alimentaires et industrielles de la famille des Légumineuses. *Bibliothèque d'Agriculture Coloniale*, Paris, 1913, p. 330.

meilleurs fourrages. Cette Légumineuse jouera, je crois, un rôle excessivement intéressant en Cochinchine ».

R. DECARY signale l'intérêt du *L. glauca* dans l'extrême sud de Madagascar, en Androy, où, après la disette exceptionnelle de la saison chaude 1930-1931, il a résolu la question du fourrage pour le bétail ⁽²¹⁾.

« A la Réunion », dit M. RIGOTARD ⁽²²⁾ « nous l'avons vu très cultivé, surtout aux environs de Saint-Denis et dans la partie sous le vent. On le désigne habituellement sous le nom de Mimosa, parfois sous les noms de Cassie blanc ou Gros Cassie ; il pousse dans presque tous les terrains, même les plus rocailleux et on peut le semer depuis le littoral jusque vers 400 m. d'altitude ; il fleurit presque toute l'année ; une fois semé, il se multiplie naturellement de ses graines tombées sur le sol ; c'est un arbuste extrêmement commun, qui s'est naturalisé dans l'île... On l'utilise comme plante améliorante et fourragère ; ses feuilles sont données au bétail ; elles augmentent la sécrétion du lait des vaches laitières, mais on lui attribue l'inconvénient de faire tomber le poil des chevaux ».

Les Equidés ne pourraient, en effet, pas consommer le *L. glauca*, en raison de son influence sur le système pileux. Ce fait est signalé par P. DE SORNAY ⁽²³⁾, Aug. DE VILLÈLE ⁽²⁴⁾, F. N. HOWES ⁽²⁵⁾, H. HEIM DE BALSAC ⁽²⁶⁾.

Dès 1896, le Docteur MORRIS faisait connaître les effets singuliers par lui relevés, aux Antilles anglaises, à la suite de l'introduction du *L. glauca* dans la ration alimentaire

(21) R. DECARY. — Nouvelles cultures entreprises dans l'Extrême Sud de Madagascar. *Revue de Bot. appl.*, 1932, 12, pp. 195-197.

(22) M. RIGOTARD. — *Loc. cit.*

(23) P. DE SORNAY. — Les Plantes tropicales alimentaires et industrielles de la famille des Légumineuses. *Bibliothèque d'Agriculture Coloniale*, Paris, 1913, p. 330.

(24) A. DE VILLÈLE. — Le *Leucæna glauca* et son action épilante sur le bétail. *L'Agronomie coloniale*, nov. 1933, 22, pp. 151-153.

(25) F. N. HOWES. — Les variabilités de toxicité des plantes nuisibles au bétail. *Revue de Bot. appl.*, avril 1934, 14, pp. 289-290.

(26) H. HEIM DE BALSAC. — A propos de l'utilisation du *L. glauca*. *L'Agronomie coloniale*, avril 1933, 22, N° 184, pp. 132-133.

du bétail ⁽²⁷⁾. Les ruminants le consomment sans danger aucun, tandis que les herbivores non ruminants, à la suite de son ingestion, ne tardent pas à être atteints d'alopecie. Les chevaux, mulets et ânes perdent les crins de leur crinière et de leur queue. Les porcs perdent leurs soies. Bœuf, chèvre et mouton ne subissent aucune action épilatoire. Le R. P. Duss, auteur de la *Flore phanérogamique des Antilles*, signale aussi ce fait et également que les lapins nourris de feuilles de *Leucaena* ne tardent pas à mourir.

Aug. DE VILLÈLE rapporte, d'autre part, avoir connu une fermière qui, afin de les rendre plus aptes à engraisser, rendait stériles ses truies en les nourrissant de *L. glauca*. De même, des personnes qui en donnaient de fortes quantités aux vaches laitières, remarquaient que celles-ci ne produisaient plus ⁽²⁸⁾.

Cependant, M. l'Inspecteur général de l'Agriculture, de l'Élevage et des Forêts de l'Indochine, dans une lettre adressée à M. le Professeur MASCRÉ, donne des renseignements qui semblent contredire les faits que nous venons d'indiquer. Il écrit, en effet :

« 1° *Institut des Recherches Agronomiques et Forestières*. — Les graines de « lamtoro » ne semblent pas être utilisées pour l'alimentation du bétail dans le Sud de l'Indochine.

Dans le Sud-Annam, on donne régulièrement des rameaux de *L. glauca* au bétail et aux chevaux et cela n'a aucune influence sur le système pileux.

2° *Institut Pasteur de Nhatrang*. — Ne possède aucun renseignement au sujet d'emploi des graines de lamtoro pour l'alimentation du bétail.

3° *Service vétérinaire du Tonkin*. — Jusqu'à présent,

(27) MORRIS. — Le *Leucaena glauca* (tamarin sauvage), faisant tomber les poils des animaux qui s'en nourrissent. *Rundschau für prakt. Aerzte*, 1897, in : *Rép. de Pharm.*, 1897, (3^e s.), 9, p. 364.

(28) Aug. DE VILLÈLE. — *Loc. cit.*, p. 152.

le lamtoro n'a pas été employé à l'alimentation du bétail en Annam.

Une expérience faite à Hué sur deux bovins auxquels il n'a été donné que du lamtoro pendant dix jours, a paru montrer qu'il était bien accepté et ne provoquait pas d'accidents. Les accidents signalés chez le cheval ont été rapportés par divers auteurs, l'Inspecteur général des Services vétérinaires des Colonies en particulier, mais ils n'ont pas été constatés en Annam.

Sauf dans des plantations, où le bétail ne pénètre pas, le lamtoro n'a guère servi jusqu'ici qu'à constituer des haies, lesquelles ne sont pas mises en général à la portée de la dent des animaux.

Cette Légumineuse va être répandue en Annam, comme fourrage et engrais vert. Son emploi deviendra fréquent et permettra, pour ce qui est de l'alimentation, de noter son importance et de signaler, s'il y a lieu, les accidents constatés.

La plante est toxique pour le lapin.

5° *Service vétérinaire de la Cochinchine*. — Les graines de lamtoro ne sont pas utilisées en Cochinchine dans l'alimentation du bétail.

Le Service vétérinaire local ne possède aucune documentation sur l'action de ces graines dans la chute des poils chez les chevaux ».

M. Roland PORTÈRES, Ingénieur d'Agronomie coloniale, nous a signalé avoir constaté en A.O.F. la chute des poils chez le lapin après ingestion de *Leucæna glauca*.

D. — Emploi comme succédané du café.

H. C. BRILL signale, en 1917, l'emploi des graines torréfiées du *L. glauca* comme succédané du café aux Philippines : « Ces graines fournissent une infusion brune, à odeur de café, que l'on emploie comme boisson. Cette infu-

sion présente par réflexion une forte fluorescence verte peu agréable à voir ⁽²⁹⁾ ».

E. — Action vermifuge des graines

Enfin, les graines de *L. glauca* seraient utilisées comme vermifuge.

Sur l'indication de M. ROME, planteur en Indochine, des essais ont été entrepris à l'Hôpital militaire d'Hanoï, en vue de vérifier cette propriété que les colons attribuent aux graines de *Leucaena glauca*. A la dose de 50 gr., on obtiendrait, en effet, de bons résultats pour expulser les ascarides.

Nous avons fait quelques essais sur l'intestin isolé de lapin : ils ont été négatifs, car nous n'avons constaté aucune contraction. Ces essais, effectués avec des extraits alcooliques provenant de graines assez anciennes, ne sauraient être considérés comme définitifs.

(29) H. C. BRILL. — Ipel, a Coffee substitute : *Leucaena glauca* (L.). *Philipp. Journ. of Science*, 1916, 11^a, p. 101. *Pharm. Journ.*, 1917, (4^e s.), 44, p. 319.

CHAPITRE IV

ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES

Peu de travaux ont été effectués sur le *Leucaena glauca*. Ce sont surtout des analyses sommaires soit des graines, soit des feuilles, destinées à déterminer la valeur fourragère de la plante.

Aug. DE VILLÈLE cite, dans l'*Agronomie coloniale* (1), les résultats d'une analyse faite en 1879, par le Directeur de la Station agronomique de la Réunion, sur les graines de ce « Mimosa ».

Humidité.	4,70
Huile grasse	6,82
Sucre.	1,06
Matière amylacée.	55,35
Matière protéique	14,51
Substances minérales	5,01
Cellulose.	12,55
	100,00

Quinze ans plus tard, dit Aug. DE VILLÈLE, le chimiste de la Nouvelle Station agronomique de la même colonie donnait, dans son rapport annuel, les mêmes nombres en remplaçant matières amylacées par « hydrates de carbone », substances minérales par « cendres ».

En 1897, BONAME, dans son rapport de la Station agro-

(1) Aug. DE VILLÈLE. — Le *Leucaena glauca* et son action épilante sur le bétail. *L'Agronomie coloniale*, nov. 1933, 22, pp. 151-153.

nomique du Réduit, à l'île Maurice, donne le tableau suivant de la composition des semences de *Leucæna* :

Eau.	9,57
Cendres.	3,87
Cellulose.	14,40
Hydrates de carbone.....	38,03
Graisses.	5,05
Matières azotées	29,08

Deux analyses exécutées depuis, à Saint-Denis de la Réunion, par M. H. BOUFFIL, chimiste, par le Crédit Foncier colonial et une autre à Peradenya (Ceylan), donnaient les mêmes résultats que ceux de BONAME.

BONAME a, de plus, signalé un essai tenté pour séparer les graines de leur enveloppe cornée (2). Cette dernière représente environ 50 % du poids global de la graine ; décortiquée, celle-ci contient plus de 50 % de matière azotée et 9 % de graisse, soit à peu près 87 % de la matière azotée totale et 90 % de la graisse totale.

	Amandes %	Enveloppe %
Eau.	11,44	12,58
Cendres.	4,78	3,42
Cellulose	7,80	13,90
Graisse.	7,02	3,20
Matières non azotées.....	37,09	55,03
Matières azotées	31,87	11,87
Matières non azotées		
Rapport ————— ...	1,3	4,9
Matières azotées		

La richesse de ces graines en matières grasses et en substances solubles dans l'eau, en fait un aliment de choix pour le bétail, de valeur comparable à celle du Maïs.

(2) P. DE SORNAY. — Les plantes tropicales de la famille des Légumineuses. Paris, 1913, pp. 332-333.

La composition des semences est, d'après une analyse du Musée Colonial de Haarlem, la suivante ⁽³⁾ :

	Semences %
Substances azotées.	25,38
Matières grasses.	5,40
Substance extractive non azotée.	21,80
Cellulose.	13,97
Eau.	12,15
Cendres.	3,99
Total.	82

Plus tard, BRILL donne des résultats assez différents ⁽⁴⁾ :

Matières grasses.	8,7
Cellulose.	22,3
Substances non azotées.	9,8
Substances azotées.	6,4
Eau.	14,8
Cendres.	4,2
Saccharose.	Traces

De plus, les feuilles de *Leucæna glauca* renferment également une notable proportion de produits azotés. P. DE SORNAY ⁽⁵⁾ donne la composition des feuilles récoltées en pleine végétation, au mois de janvier :

	% de matière sèche	% de matière naturelle
Eau.		75
Cendres.	6,20	1,55
Cellulose.	14,44	3,86
Graisse.	1,28	0,32
Matière non azotée	55,76	13,94
Matière azotée	21,32	5,35

(3) M. GRESHOFF, J. SACK et J. J. VAN ECK. — In : J. KONIG et A. BOMER, Chemische Zusammensetzung der menschlicher Nahrungs und Genussmittel, 4^e édit., I, Berlin, 1903, p. 14.

(4) H. C. BRILL. — Ipel, a Coffee substitute. *Philipp. Journ. of Science*, 1916, 11^a, p. 101, et : *Pharm. Journ.*, 1917, (4^e s.) 44, p. 319.

(5) P. DE SORNAY. — *Loc. cit.*

Les cendres de ces feuilles ont la teneur suivante en éléments minéraux :

	% de cendres	% de feuilles vertes	% feuilles sèches
Silice.	2	0,031	0,124
Chlore.	5,76	0,089	0,357
Acide sulfurique	2,18	0,034	0,135
Acide phosphorique ..	5,10	0,079	0,316
Chaux.	27,60	0,428	1,711
Magnésie.	6,70	0,104	0,415
Potasse.	24,68	0,382	1,530
Oxyde de fer.	0,64	0,010	0,040
CO ² , etc..	25,34	0,393	1,572

Nous résumons en un tableau, les résultats des analyses déjà faites :

Auteurs	Eau %	Cen- dres %	Cellu- lose %	Grais- se %	Subs. azot. %	Subs. non azot. %	Sucre %
Analyse par Station agrono- mique de la Réunion (1879)	4,70	5,01	12,55	6,82	14,51	55,35	1,06
BONAME (1897)	9,57	3,87	14,40	5,05	29,08	38,03	
Feuilles sèches (DE SORNAY)	—	6,20	15,44	1,28	21,32	55,76	
Analyse du Musée colonial de Haarlem (1900).....	12,15	3,99	13,97	5,4	25,32	21,8	
BRILL (1916).....	14,8	4,2	22,3	8,7	6,42 (Azote)	9,78	

Leucæmol. — En 1937, M. MASCRÉ a retiré des graines du *Leucaena glauca* un principe défini, cristallisé, qu'il a appelé *leucæmol*. C'est ce principe qui donne avec le chlorure ferrique, une coloration violette intense (6).

(6) M. MASCRÉ. — Le leucaenol, principe défini cristallisé retiré des graines de *Leucaena glauca* Benth. C. R. Ac. Sc., 1937, 204, pp. 890-891.

Pour extraire cette substance, l'auteur traite les graines par digestion aqueuse. Il obtient une liqueur mucilagineuse dont il précipite le mucilage par addition de 4 à 5 volumes d'alcool à 95 c. Il filtre rapidement sur gaze et concentre ensuite par distillation. Il se sépare un précipité cristallin qui est repris par l'eau à plusieurs reprises ; on obtient finalement un produit parfaitement cristallisé, dont la coloration varie du blanc rosé au rose chair.

M. MASCRÉ a pu, par cristallisations répétées, obtenir un produit ne renfermant plus que des traces de cendres, fondant à 285-287°. La combustion conduit à la formule brute ($C^4H^5O^2N$) ; le poids moléculaire n'a pu être déterminé, en raison de l'insolubilité du leucæmol dans tous les solvants usuels.

Le leucæmol, en effet, soluble dans l'eau (dans 100-110 parties à l'ébullition, 500-600 parties à la température ordinaire), est très peu soluble dans l'alcool, même dans un alcool de titre faible, insoluble dans l'éther sulfurique, le chloroforme, le benzène. Il est dissous dans l'eau beaucoup plus facilement à la faveur des acides ou des alcalis.

Ses diverses réactions et ses solubilités permettent d'affirmer que le leucæmol est à la fois phénol et amine, et qu'il possède sans doute aussi la fonction acide.

Ce corps paraît n'avoir pas encore été rencontré dans le monde végétal.

Au cours de nos recherches, on verra que le leucæmol nous a souvent gêné dans la séparation des principes que nous avons étudiés ; il est particulièrement difficile d'en priver complètement le mucilage, qui le retient énergiquement quand on précipite ce dernier par l'alcool de ses solutions aqueuses.

Telles étaient les connaissances acquises sur la composition chimique des graines de *Leucæna glauca* Benth., lorsque nous en avons commencé l'étude.

Après l'exposé de l'étude histologique de la plante, les résultats que nous avons obtenus se trouvent exposés dans l'ordre suivant : glucides (mucilage et sucres), lipides (matières grasses et stérols), matières protéiques, substances phosphorées, substances minérales, ferments.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

ETUDE HISTOLOGIQUE DU *LEUCÆNA GLAUCA*

Nous avons étudié l'anatomie des divers organes du *Leucæna glauca* Benth., étude qui, à notre connaissance, n'a pas encore été faite.

Racine (Fig. 5 et 6).

Suber formé d'un petit nombre d'assises. Parenchyme cortical peu développé, renfermant des amas espacés, assez volumineux, de fibres à parois lignifiées, accompagnées de cristaux prismatiques d'oxalate de calcium.

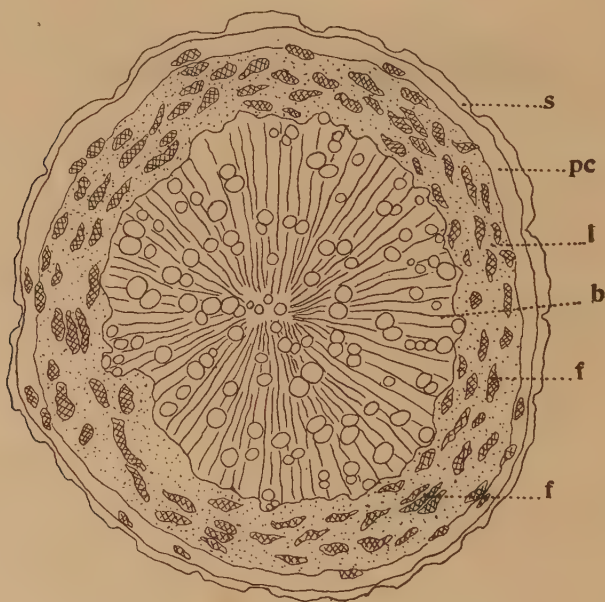


FIG. V. — Racine de *Leucæna glauca* L.
s., suber; pc., parenchyme cortical; l., liber;
b., bois; f., fibres péricycliques.
(Gross. = 20 diamètre.)

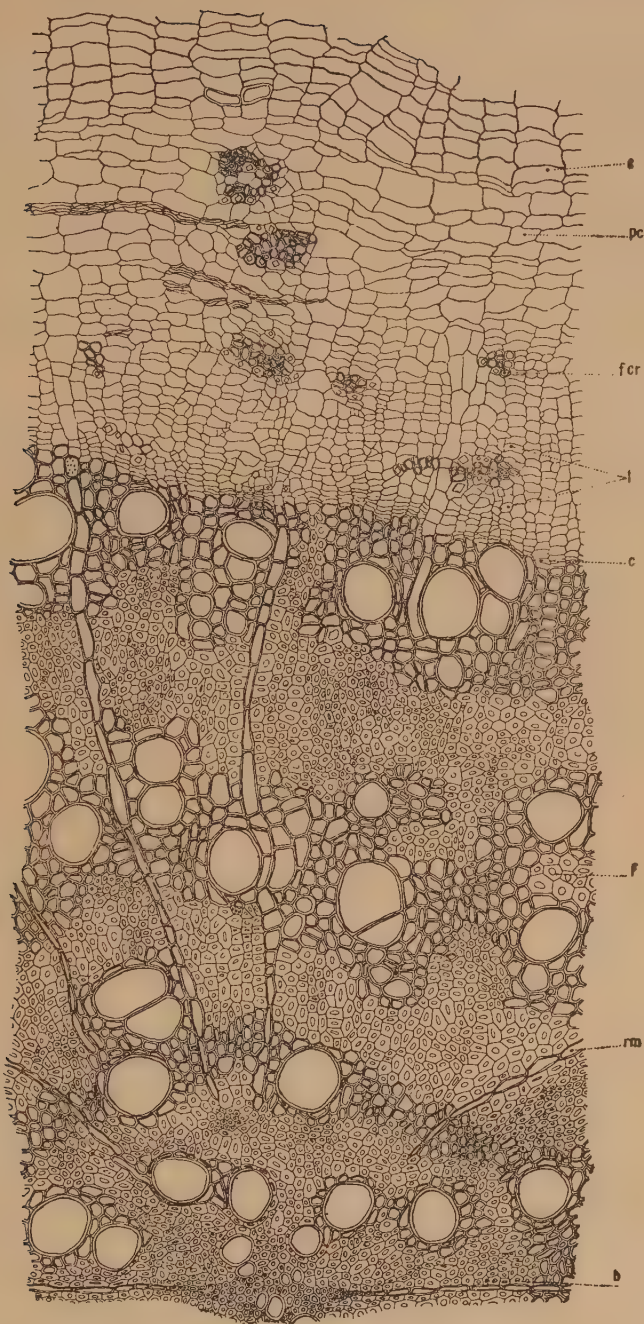


FIG. VI. — Racine de *Leucæna glauca* L.
 s., suber; pc., parenchyme cortical; f cr., fibres
 cristalligènes; l., liber; c., cambium; b., bois;
 f., fibres ligneuses; rm., rayon médullaire.
 (Gross. = 96 diam.)

Pas d'endoderme ni de péricycle distincts.

Liber traversé de rayons médullaires formés d'une seule rangée de cellules, plus allongées que les cellules libériennes voisines. On trouve, dans le liber, des amas de fibres lignifiées, bordés de cellules, lignifiées généralement qui renferment des prismes d'oxalate de calcium (*f. cr.*). Vers la partie externe du liber et dans la partie profonde du parenchyme cortical, on observe, de place en place, des paquets de cellules écrasées.

Bois traversé de rayons médullaires unisériés (*r. m.*). Les vaisseaux sont volumineux, entourés de grandes cellules à parois épaissies, disposés assez régulièrement en couches concentriques. Le reste du parenchyme ligneux est formé de deux sortes d'éléments : cellules assez grandes, à paroi peu épaisse, et cellules plus petites, à parois fortement lignifiées, à méat très réduit. Bois primaire entièrement lignifié. De place en place, dans la région ligneuse, quelques cristaux d'oxalate de calcium.

Tige (Fig. 7 et 8).

Suber peu développé. Parenchyme cortical réduit à un petit nombre d'assises à paroi cellulosique.

Au niveau du péricycle : fibres épaissies, lignifiées, à méat réduit et à parois canaliculées (*f. p.*). Elles forment de petits amas, réunis entre eux par des cellules scléreuses. L'anneau péricyclique est presque complet, interrompu seulement par quelques cellules à paroi cellulosique (*c. s. p.*).

Liber d'aspect normal, avec des cellules lignifiées réunies par groupes de deux ou trois, rarement par petits amas.

Bois secondaire (*b.*) traversé par des rayons médullaires formés d'une seule file d'éléments. Vaisseaux volumineux. Parenchyme formé de couches alternantes de cellules sclé-

rifiées et de fibres ligneuses. Les faisceaux de bois primaire, sont entourés de cellules entièrement lignifiées.

Moëlle (*m.*) constituée par des cellules à paroi mince lignifiée.

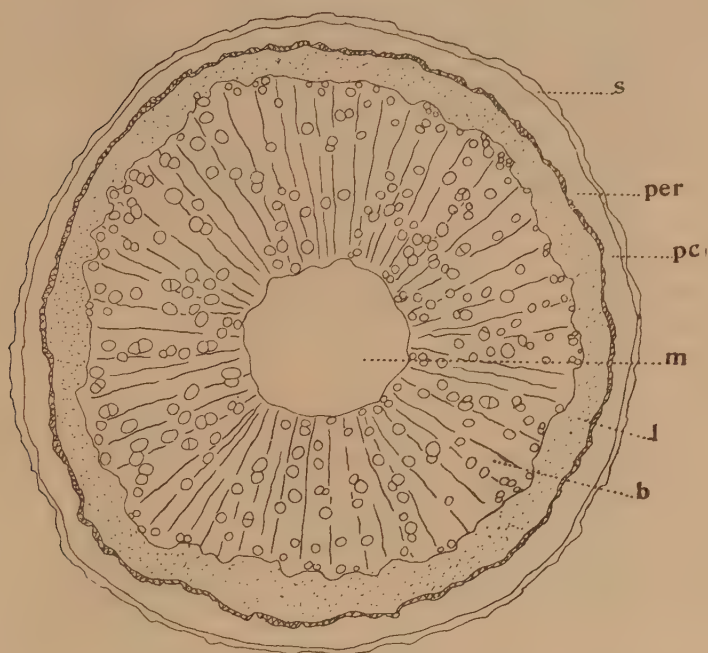


FIG. VII. — Dessin schématique de la tige de *Leucæna glauca* L.

s. suber; *pc.*, parenchyme cortical; *pér.*, péricycle;
l., liber; *b.*, bois; *m.* moëlle.

(Gross. = 20 diam.)

Cristaux prismatiques d'oxalate de calcium dans le parenchyme cortical et le liber.

Pas d'appareil sécréteur différencié.

Feuille (Fig. 9 et 10).

Entre les épidermes supérieur et inférieur, le mésophylle présente une structure symétrique : parenchyme palissa-

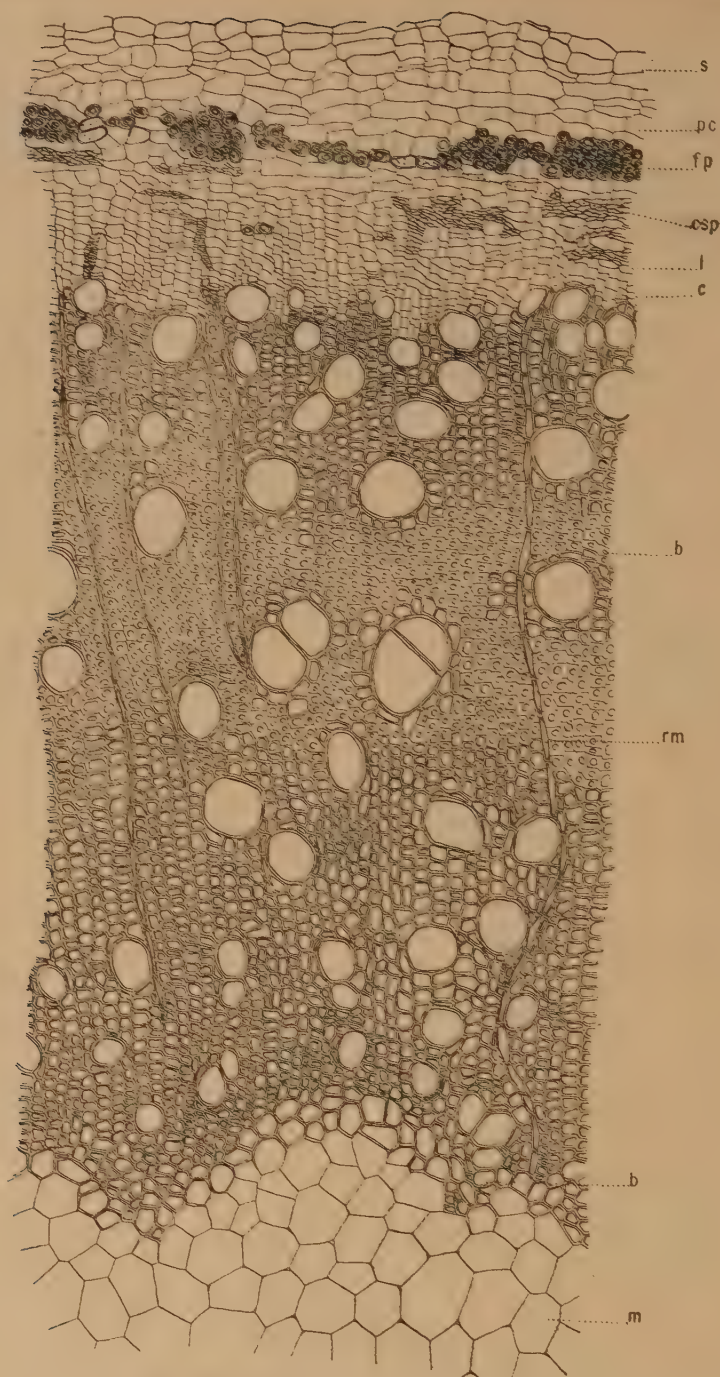


FIG. VIII. — Tige du *Leucæna glauca* L.
 s., suber; pc., parenchyme cortical; f.p., fibres péri-
 cycliques; csp., cellules péri-cycliques sclérifiées;
 l., liber; c., cambium; b., bois; rm., rayon mé-
 dullaire; m., moelle.

(Gross. = 120 diam.)

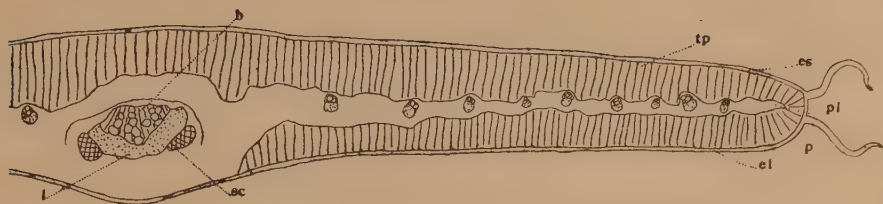


FIG. IX. — Dessin schématique de la feuille de *Leucæna glauca* L.
 es., épiderme supérieur; tp., tissu palissadique; p., poil; pl., parenchyme
 lacuneux; l., liber; b., bois; sc., sclérenchyme. (Gross. = 90 diam.)

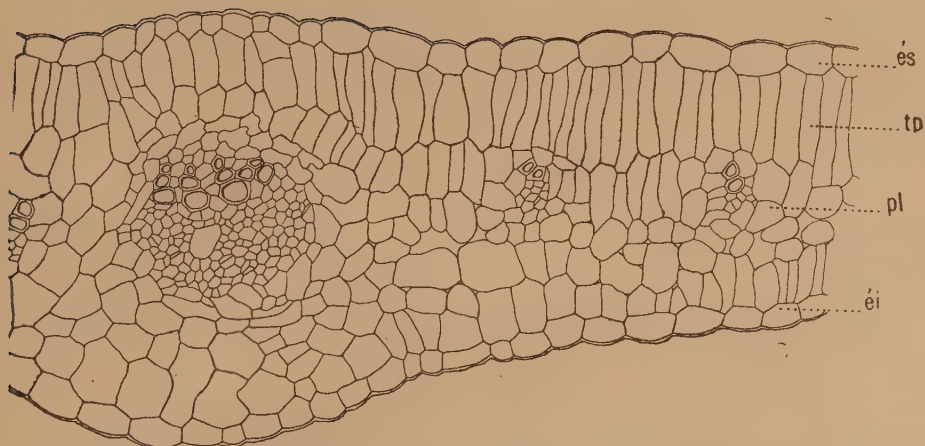


FIG. 10. — Feuille de *Leucæna glauca* L. Section transversale.
 es., épiderme supérieur; tp., tissu palissadique; pl., parenchyme lacuneux;
 éi., épiderme inférieur. (Gross. = 210 diam.)

dique sur les deux faces et parenchyme lacuneux dans toute la région médiane. Cependant, le parenchyme palissadique supérieur est constitué par deux assises, le parenchyme palissadique inférieur par une seule assise de cellules. Ce dernier est interrompu au niveau de la nervure centrale. Dans le parenchyme lacuneux, nombreux faisceaux libéro-ligneux, de volume réduit (fig. 9).

Sur la partie marginale du limbe, quelques cellules épidermiques s'allongent en poils unicellulaires sinueux. Les cellules des épidermes contiennent du mucilage ; celui-ci paraît manquer, pourtant, au niveau de la nervure médiane.

La nervure médiane est un peu saillante à la face inférieure, à peine indiquée à la face supérieure (fig. 10). Faisceau libéro-ligneux unique, dont l'endoderme est peu distinct. Bois à parenchyme cellulosique avec quelques vaisseaux. Liber assez développé, sans particularité. Au voisinage du pétiole, on trouve quelques fibres péricycliques.

Fruit (Fig. 11 et 12).

En section transversale, la gousse présente un aspect fortement aplati, avec quelques poils (fig. 11).

Chez le fruit proche de la déhiscence, on trouve en coupe transversale :

Epicarpe (*ép.*) formé d'une assise de cellules allongées, à paroi peu épaisse, à cuticule mince. Certaines sont allongées en poils unicellulaires à paroi lisse, un peu courbes vers le sommet (fig. 12).

Sous l'épicarpe : quelques assises de cellules allongées sclérenchymateuses (*c. s.*).

La partie médiane du mésocarpe, plus épaisse, est entièrement cellulosique (*m. s.*).

La partie profonde : formée de plusieurs assises de cellules polygonales lignifiées (*sc.*).

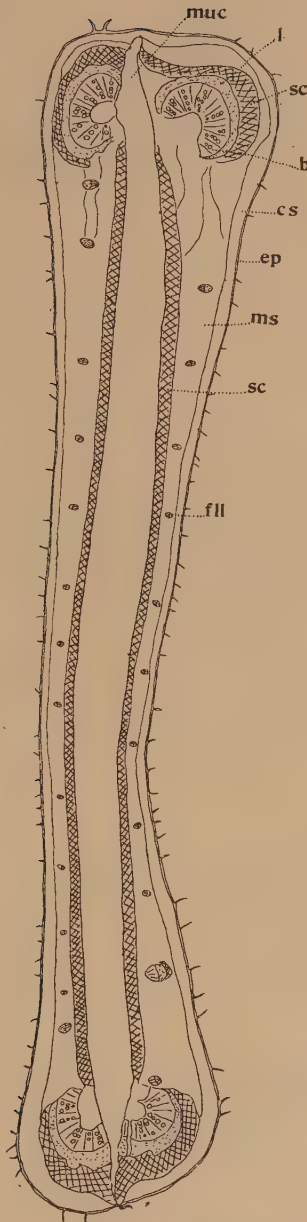


FIG. XI. — Section transversale dans le fruit du *Leucæna glauca* L.

ép., épicarpe; ms., mésocarpe; cs., cellules sclérifiées; sc., sclérenchyme; fll., faisceau libéro-ligneux; l., liber; b., bois; muc., mucilage.

(Gross. = 16 diam.)

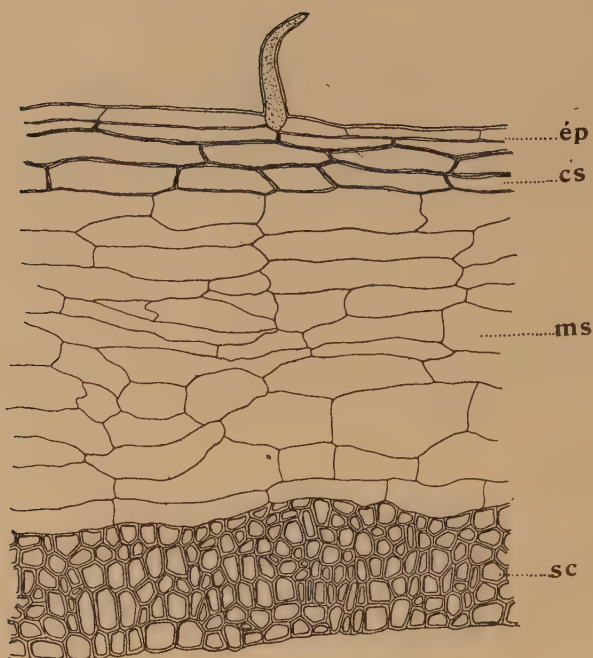


FIG. XII. — Section dans le péricarpe du
Leucæna glauca L.

ép., épicarpe; cs., cellules sclérifiées; ms., méso-
carpe.

(Gross. = 96 diam.)

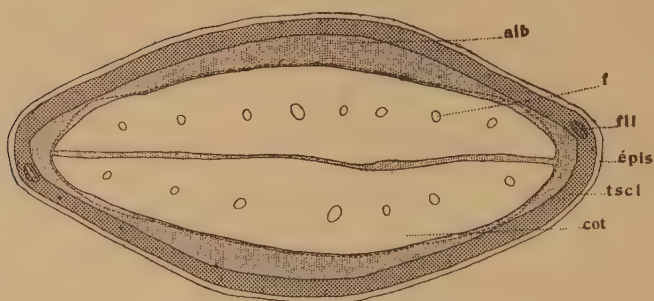


FIG. XIII. — Dessin schématique d'une section
de la graine de *Leucæna glauca* L.

épi., épisperme; tscl., tissu scléreux; fll., faisceau
libéro-ligneux; alb., albumen; cot., cotylédons; f.,
faisceaux cotylédonaires.

(Gross. = 24 diam.)

Dans la partie cellulosique du péricarpe : faisceaux libéro-ligneux. A chacune des deux extrémités transversales du fruit, on trouve deux faisceaux libéro-ligneux, plus développés que les précédents, et coiffés de sclérenchyme. Au stade observé, on trouve, entre les faisceaux de chaque extrémité, une « coupure » préparant la déhiscence. Elle nous a paru correspondre à une transformation mucilagineuse des cellules.

TEGUMENT. — *Episperme* : cellules palissadiques lignifiées très allongées, à lumen assez nettement triangulaire. Très atténué vers l'extérieur, ce lumen y prend l'aspect d'une ligne mince difficile à distinguer des stries de la paroi. Vers le tiers supérieur, on distingue comme une ligne lumineuse, déjà signalée chez les graines de Légumineuses (1).

Assise formée de cellules à paroi lignifiée, en forme de T renversé.

Plusieurs couches de cellules, allongées tangentiellement, laissant entre elles de petits méats, à parois fortement sclérifiées ; certaines de ces cellules renferment un cristal d'oxalate de calcium.

Une ou deux assises de cellules à paroi cellulosique, écrasées.

ALBUMEN. — Entre les téguments et les cotylédons, on trouve une région qui se gonfle fortement au contact de l'eau et qui, lorsqu'on sépare l'amande des téguments, reste attachée à ceux-ci.

On y distingue, vers l'extérieur, deux ou trois rangées de cellules volumineuses, dont les parois, fortement gonflées, entourent les restes parfaitement visibles du protoplasme. Ces parois ne se colorent pas par le vert d'iode, ni le carmin, ni même par l'hématoxyline.

Au-dessous de ces éléments, on trouve des restes de cel-

(1) H. NADELMANN. — Ueber die Schleimendosperme der Leguminosen. *Pringsheim Jahrb. für wiss. Botanik*, 1890, 21, pp. 609-691.

lules écrasées, se colorant par les réactifs des mucilages. Etant donnée l'existence d'états de transition entre ces éléments et les précédents, il n'est pas douteux qu'on se trouve là en présence d'une région qui subit la dégénéres-

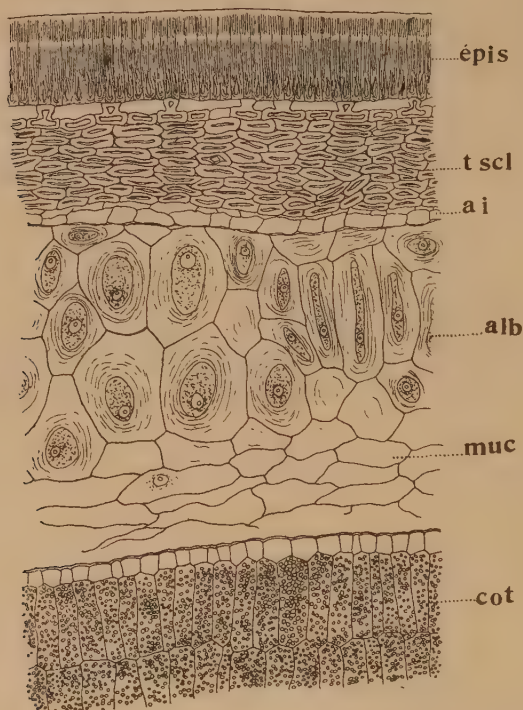


FIG. XIV. — Section de la graine de
Leucæna glauca L.
épis., épisperme; t.scl., tissu scléreux; a.i., assise
interne; alb., albumen; muc., mucilage; cot.,
cotylédon.

(Gross. = 140 diam.)

cence mucilagineuse, portant d'abord sur les parties les plus profondes voisines des cotylédons. Cette région représente les restes de l'albumen. De tels exemples d'albumen mucilagineux ont été fréquemment rencontrés chez les

Légumineuses, ainsi dans les genres : *Astragalus*, *Trigonella*, *Melilotus*, *Gleditschia*, *Cercis*, *Ceratonia*, etc... (2) (3).

Au-dessous de l'épiderme, dont les cellules ne présentent aucune particularité, les cellules cotylédonaire, absolument privées d'amidon, sont remplies de granulations d'aleurone, sans organisation distincte.

On y trouve aussi des globules graisseux.

(2) J. GODFRIN. — Recherches sur l'anatomie comparée des cotylédons et de l'albumen. *Ann. Sc. nat. (Botanique)*, 1884, (6^e s.), 19, pp. 5 à 158 (*passim*).

(3) H. NADELMANN. — *Loc. cit.*

CHAPITRE II

ETUDE DU MUCILAGE ET DES SUCRES

I. — Le Mucilage.

Préparation

La poudre de graines, dégraissée par l'éther de pétrole, est mise à digérer dans dix fois son poids d'eau distillée. On passe le mélange sur une gaze et on renouvelle l'épuisement du marc, deux fois, par la même quantité d'eau distillée. Le liquide obtenu, plus ou moins coloré en rouge (moins coloré quand on fait l'épuisement en présence d'un peu de bisulfite de sodium), présente les caractères suivants :

Il précipite par addition d'alcool.

Il se prend en masse instantanément par addition d'un volume d'eau de baryte,

Il se coagule par addition d'acétate neutre ou de sous-acétate de plomb.

Il n'est pas précipité par addition de sulfates de sodium, de magnésium ou d'ammonium à saturation.

Pour séparer le mucilage, les liqueurs provenant de l'épuisement précédent sont additionnées de 2-3 volumes d'alcool à 90°. Le précipité est recueilli aussitôt sur une gaze. Les liquides de filtration contiennent la plus grande partie du leucæmol ; cependant, le précipité en retient toujours une certaine quantité, d'autant plus grande qu'on a tardé davantage à le séparer ; c'est pourquoi il faut procéder à sa séparation immédiatement après la précipita-

tion. En procédant de suite à la dessiccation, on obtient toujours un produit assez fortement coloré. Il est nécessaire de lui faire subir une purification qui enlèvera la plus grande partie du pigment.

Nous avons tenté cette purification en redissolvant le précipité mucilagineux encore humide dans l'eau bouillante et en précipitant par l'alcool. Mais, même après plusieurs opérations semblables, on obtient encore un produit coloré.

Nous avons pensé recourir à l'emploi de charbon activé pour assurer la décoloration. Nous avons opéré l'épuisement aqueux en présence de charbon. Le mucilage est toujours mêlé de particules de charbon; il est nécessaire de le redissoudre dans l'eau et de le précipiter à nouveau par l'alcool. Le procédé, quoiqu'il donne des résultats un peu meilleurs que le précédent, n'est pas moins laborieux.

Nous avons alors préparé notre mucilage suivant la technique indiquée par H. HÉRISSEY (1). Les graines moulues, de préférence dégraissées, sont mises à macérer pendant deux jours dans dix fois leur poids d'une solution d'acétate neutre de plomb à 1 %. Les liqueurs, filtrées avec expression, sont additionnées d'acide oxalique en quantité suffisante pour précipiter l'excès de plomb. On filtre. On ajoute au filtrat deux volumes d'alcool à 90°. Le mucilage précipite sous forme de flocons incolores ou très faiblement colorés. On recueille le précipité sur un filtre; on le délave à plusieurs reprises dans de l'alcool à 90° et on égoutte chaque fois. Finalement, on porte le mucilage à l'ébullition dans l'alcool à 95°; on lave à l'éther et on sèche dans le vide sulfurique.

Par ce procédé, nous avons obtenu un produit plus pur que par les procédés antérieurs. Le rendement est de l'ordre de 12 à 14 %.

(1) H. HÉRISSEY. — Digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1903.

Pour les dosages, nous avons d'abord travaillé sur ce produit. Pour les déterminations plus précises, effectuées à la lumière des premiers résultats, nous avons extrait le mucilage des téguments séparés de la graine. En laissant tremper celle-ci dans l'eau pendant vingt-quatre à quarante-huit heures, on assure le gonflement de la couche mucilagineuse et l'on peut séparer à la main les téguments auxquels adhère la couche mucilagineuse des amandes. Le tégument, en effet, ne contient pas de leucæmol. Les amandes ainsi séparées nous ont servi d'autre part à l'extraction des protéines.

Etude du mucilage ⁽²⁾

Dosage de l'humidité. — Le mucilage, séché dans le vide sulfurique, pulvérisé, puis abandonné quelque temps dans un flacon bouché, est soumis à l'action du vide sulfurique, puis séché à l'étuve à 100-105° jusqu'à poids constant. La perte de poids est de 6,5 %.

Dosage des cendres. — La calcination en capsule de platine du résidu précédent laisse un résidu de 3,91 %.

Examen polarimétrique. — 0 gr. 30 de mucilage sont dissous dans 100 Cm³ d'eau distillée, la solution étant filtrée plusieurs fois en présence de talc, jusqu'à obtention de liqueur limpide. A l'examen au polarimètre, on ne constate aucune déviation.

Pouvoir réducteur. — La solution précédente ne réduit pas la liqueur de FEHLING.

Dosage des produits réducteurs et examen polarimétrique après hydrolyse acide. — 2 gr. de mucilage sont hydrolysés par ébullition de deux heures avec 150 Cm³ d'acide sulfurique à 2 % en volume. Après refroidissement on amène le volume à 200 Cm³.

(2) Ces déterminations ont été faites sur un mélange de produits provenant de plusieurs préparations d'après la technique de H. HÉRISSEY.

100 Cm³ de la liqueur correspondent donc à 1 gr. de mucilage.

Dans un ballon jaugé de 50 Cm³, on introduit 25 Cm³ de la liqueur d'hydrolyse; on ajoute 5 Cm³ de sous-acétate de plomb et on complète à 500 Cm³ avec de l'eau distillée.

L'examen au polarimètre accuse une déviation de +24 à +26 minutes, correspondant à une déviation de 48 à 52 minutes pour la liqueur d'hydrolyse.

Les sucres réducteurs ont été dosés par la méthode de BERTRAND. Ils correspondent à 6 cgr. 35 exprimés en glucose pour 10 Cm³ de liqueur déféquée, à 1 gr. 27 pour 100 Cm³ de liqueur d'hydrolyse provenant de 1 gr. de mucilage.

Nous avons également effectué un dosage des produits réducteurs par la méthode à l'iode (Méthode de BOUGAULT) (3).

10 Cm³ de la liqueur déféquée précédente sont mesurés dans un flacon bouchant à l'émeri et additionnés de 20 cm³ de solution d'iode N/10. On place le flacon dans la glace fondante pendant un temps suffisant pour que la température du mélange s'abaisse à +1°.

On ajoute alors 20 Cm³ de solution de CO³Na² à 15 %, préalablement refroidie à +1°. On laisse en contact 2 h. 30. Ce temps passé, on acidule par ClH à 15 % et on titre l'excès d'iode par une solution d'hyposulfite N/10.

On trouve 6 Cm³ 6 d'iode N/10 utilisés, 100 Cm³ de liqueur d'hydrolyse, correspondant à 1 gr. de mucilage, renferment donc :

$$\frac{180 \times 0,0127 \times 6,2 \times 2 \times 10}{254} = 1 \text{ gr. 18 de sucres réducteurs}$$

exprimés en glucose.

En rapprochant les résultats de ces deux dosages, nous pouvons penser que le mucilage ne donne par hydrolyse

(3) J. BOUGAULT. — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1917, (7^e s.), 16, pp. 97-110.

que des sucres aldéhydiques, la méthode à l'iode ne dosant que ces derniers.

Caractérisation des oses contenues dans le liquide d'hydrolyse :

1° CARACTÉRISATION DES PENTOSE.

a) *Réactions à l'orcinol et au phloroglucinol* (4).

Le liquide d'hydrolyse, neutralisé par CO_3Ba et filtré, additionné de son volume de ClH concentré et de quelques cristaux d'orcinol, donne, à froid et plus rapidement à chaud, une coloration bleu-violacé, qu'on peut rassembler dans l'alcool amylique.

En remplaçant l'orcinol par le phloroglucinol, on obtient une coloration rouge foncé.

Nous avons également obtenu la réaction de BIAL, avec le réactif :

Orcinol.	1 gr.
Cl H concentré.	500 Cm^3
$\text{Cl}^3 \text{ Fe}$ officinal	XV gouttes

On chauffe au voisinage de 60° quelques Cm^3 de réactif et on ajoute quelques gouttes de la liqueur d'hydrolyse. Il apparaît une coloration vert-émeraude.

b) *Réaction au naphtorésorcinol* (TOLLENS) (5).

A quelques Cm^3 de la liqueur d'hydrolyse, on ajoute 1 Cm^3 de solution alcoolique de naphtorésorcinol à 1 % et 5 Cm^3 de ClH pur. On fait bouillir avec précaution pendant une minute. On refroidit sous un courant d'eau froide. Il se forme un précipité brun que l'on sépare par filtration. Le dépôt resté sur le filtre est alors dissous dans de l'alcool à 95° . On obtient une solution rouge brunâtre

(4) G. BERTRAND et P. THOMAS. — Guide pour les manipulations de Chimie biologique, Paris, 1919, p. 70.

(5) MEYER. — Analyse et détermination de la constitution des composés organiques (1^{re} éd.). Trad. par M. BERNHEIM, Paris, 1924, II, p. 229.

avec forte fluorescence verte. Par addition de NH_3 , la solution devient brun-jaunâtre avec fluorescence jaune-ocre.

c) *Formation de furfural.*

La solution d'hydrolyse, chauffée avec un volume convenable de ClH ou de SO_4H_2 dégage des vapeurs de furfural qui colorent en rouge le papier à l'acétate d'aniline.

2° CARACTÉRISATION DU GALACTOSE (par formation d'acide mucique) (6) :

10 Cm^3 de liqueur d'hydrolyse sont additionnés de 10 Cm^3 de NO_3H de $d=1,15$. On chauffe au bain-marie jusqu'à dégagement de vapeurs rutilantes. On éloigne du feu un moment et, lorsque la réaction est calmée, on évapore doucement jusqu'à obtention d'un sirop très clair pour chasser l'excès d'acide. On reprend par 3 à 4 Cm^3 d'eau distillée. Il se forme un dépôt cristallin, apparaissant au microscope sous forme de petits prismes courts, solubles dans l' NH_3 . Ce sont les caractères de l'acide mucique, dont la formation, dans ces conditions, caractérise la présence de galactose dans la liqueur d'hydrolyse, de galactanes dans le mucilage.

3° CARACTÉRISATION DU MANNOSE (par son hydrazone).

La liqueur d'hydrolyse, neutralisée par le CO_3Ba et filtrée, est additionnée du réactif suivant :

Chlorhydrate de phénylhydrazine ..	5 gr.
Acide acétique	20 Cm^3
Acétate de sodium	10 gr.
Eau distillée	Q. S. 100 Cm^3

On mêle 6 à 7 Cm^3 de ce réactif à 50 Cm^3 de la solution; on agite, il apparaît un trouble. Après quelques heures, il s'est formé un dépôt apparaissant au microscope comme formé de sphéro-cristaux. Après lavage à l'alcool et à

(6) G. BERTRAND et P. THOMAS. — Guide pour les manipulations de Chimie biologique, Paris, 1919, p. 79.

l'éther, ces cristaux fondent à 198-199° au bloc MAQUENNE. Le produit obtenu correspond à la mannosehydrazone.

4° CARACTÉRISATION DU XYLOSE (par son osazone et par le xylono-bromure de cadmium).

Le liquide précédent, filtré pour séparer la mannosehydrazone, additionné à nouveau de 3 à 4 Cm³ de solution acétique de phénylhydrazine, est maintenu au bain-marie bouillant. Il se forme bientôt un précipité que l'on sépare en filtrant le liquide chaud.

Le précipité resté sur le filtre se montre au microscope avec l'aspect de la galactosazone (en cristaux lancéolés). Mais on y trouve mêlés des cristaux ayant l'aspect de branches de genêt, comme les cristaux de glucosazone. La difficulté de séparer les deux osazones ne permet pas d'affirmer la présence de glucose à côté du galactose.

Dans le liquide précédent filtré à chaud, il se forme, au cours du refroidissement, un nouveau dépôt d'une osazone ayant, au microscope, l'aspect de longues et belles aiguilles. Après purification par cristallisations répétées dans l'alcool méthylique, ces cristaux fondent à 164° (bloc MAQUENNE). Le point de fusion de la xylosazone étant 164° (LEVENE et LAFORGE), ou 166° (BERTRAND et THOMAS), les cristaux obtenus peuvent être considérés comme identiques à la xylosazone.

Le xylose a été caractérisé d'autre part par formation de xylono-bromure de cadmium. Pour cela nous avons opéré de la façon suivante :

20 Cm³ de liqueur d'hydrolyse, neutralisés, concentrés au bain-marie à 10 Cm³, sont, après refroidissement, additionnés de 6 Cm³ 5 de brome. On bouche le flacon ; on agite de temps à autre jusqu'à dissolution complète du brome. Après quarante-huit heures de contact, l'oxydation est terminée. On chasse l'excès de brome en faisant bouillir sous la hotte le contenu du flacon. On sature le liquide par addition de carbonate de cadmium en léger excès et on fait bouillir pendant une dizaine de minutes pour dé-

composer éventuellement la lactone xylonique formée. On filtre le liquide bouillant. Par refroidissement, il s'est formé un précipité cristallin, dont la séparation est favorisée par addition d'un demi-volume d'alcool. Le produit, au microscope, a l'aspect d'aiguilles prismatiques diversement groupées, souvent en sphérocristaux. Il n'a pas de point de fusion net. Lavé avec un peu d'alcool, séché, puis chauffé dans un tube à essai, il se décompose en se boursoufflant. Nous avons bien obtenu, ainsi, du xylonobromure de cadmium.

5° RECHERCHE DE L'ARABINOSE.

A 15 cm³ du liquide d'hydrolyse neutralisé, on ajoute une solution de diphénylhydrazine symétrique à 1 % dans l'alcool méthylique et on porte au bain-marie bouillant pendant une heure. Il ne s'est formé aucun précipité : il n'y a pas d'arabinose.

6° CARACTÉRISATION DES ACIDES URONIQUES (par le naphtorésorcinol (7)).

On chauffe au bain-marie bouillant un mélange de 5-6 Cm³ de liqueur d'hydrolyse avec 1 Cm³ de solution alcoolique de naphtorésorcinol à 1 % et 5-6 Cm³ de ClH. Après une minute, on laisse reposer quelques minutes, on refroidit sous un courant d'eau et on agite avec de l'éther. La solution étherée, colorée en bleu, présente une bande d'absorption voisine de la raie D, vers le vert.

7° DÉTERMINATION DE L'INDICE DE MÉTHOXYLE.

Cet indice, déterminé suivant la technique de GONNARD (8) est de 6,5 (nombre de milligrammes de méthoxyle (OCH³) décelés par action de l'acide iodhydrique à 57 % (d = 1,7) à 130-140°, dans 1 gramme du corps à analyser).

Cet indice, très faible, montre l'absence de composés pectiques dans le mucilage de *Leucæna glauca*, et laisse

(7) MEYER. — *Loc. cit.*, p. 890.

(8) P. GONNARD. — L'indice de méthoxyle. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1937.

supposer qu'il est d'origine uniquement cellulosique. C'est du moins ce qu'on peut conclure des expériences de JANOT et GONNARD sur l'origine des gommes : ils considèrent en effet que les gommes d'origine cellulosique, comme la gomme arabique, ont un indice de méthoxyle nul ou faible, alors que l'on trouve un indice de méthoxyle élevé (supérieur à 20) quand la gomme a atteint des parties lignifiées ou pectosiques (9).

Nous avons dosé, dans le mucilage du *Leucæna glauca*, les pentosanes, les mannanes, les galactanes.

8° DOSAGE DES PENTOSANES.

Il a été fait d'après la technique de FLINT et TOLLENS (10); l'hydrolyse des pentosanes donnant du furfurol, celui-ci est recueilli par distillation, combiné au phloroglucinol en milieu chlorhydrique. On pèse le phloroglucide et l'on divise le poids trouvé par un diviseur variable avec la quantité de phloroglucide obtenue.

Dans un ballon d'une capacité de 250-300 Cm³ on place une prise d'essai convenable de mucilage. On recouvre de 100 gr. d'HCl à 12 % (poids spécifique = 1,06) et on chauffe au bain d'huile de vaseline à feu doux d'abord pour dissoudre le mucilage et éviter la formation de mousse gênante pour la distillation (cet inconvénient est d'ailleurs en partie atténué par l'introduction de perles de verre ou de fragments de porcelaine).

Le ballon porte un bouchon traversé par une pipette à robinet qui va jusque un peu au-dessous du col du ballon et par le tube à distillation qui s'arrête juste au-dessous du bouchon. Le tube à distillation, qui ne doit pas être trop étroit, se trouve élargi au-dessous du coude sous forme de boule et est muni d'un réfrigérant de LIEBIG.

Quand le mucilage est complètement dissous et hydro-

(9) M.-M. JANOT et P. GONNARD. — Indice de méthoxyle de quelques gommes et en particulier des gommes arabique et adragante. C. R. Ac. Sc., 1938, 207, pp. 594-597. Bull. Sc. Pharmacol., 1938, 45, pp. 396-398.

(10) MEYER-BERNHEIM. — Loc. cit., p. 891.

lysé par ClH, la mousse devient moins abondante et l'on peut élever la température: le bain d'huile est alors chauffé de façon qu'il passe, en dix à quinze minutes, 30 Cm³ à la distillation; ceci se produit lorsqu'il est porté aux environs de 160°. Le distillat est recueilli dans des éprouvettes graduées à 30 Cm³. Aussitôt que l'éprouvette est remplie jusqu'à la marque 30, on transvase le contenu dans un vase à agitation gradué à 400 Cm³; à l'aide de la pipette à robinet on verse 30 cm³ de ClH nouveau dans le ballon et l'on continue à distiller jusqu'à ce qu'une goutte de distillat ne présente plus de coloration rouge lorsqu'on la laisse tomber sur un papier humecté d'une solution acétique d'aniline, ce qui demande six heures et demie environ.

Aux liquides réunis dans le vase à précipiter on ajoute de la phloroglucine, en quantité double du furfurol cherché (quantité fixée par plusieurs essais préalables). La phloroglucine est dissoute d'abord dans une petite quantité de ClH à 12 %. On ajoute ensuite de la solution chlorhydrique jusqu'à ce que le volume atteigne 400 cm³; on agite bien et on laisse reposer jusqu'au lendemain. On filtre alors sur un filtre taré, rince la masse résineuse noire avec 150 Cm³ d'eau, sèche pendant quatre heures à l'étuve et pèse.

Le calcul se fait par division du poids de phloroglucide à l'aide d'un diviseur fixé dont la grandeur varie avec la quantité de phloroglucide. Ici, le poids de phloroglucide (moyenne de trois dosages) est de 21 cgr. 4 pour 6 gr. de mucilage.

Le diviseur à employer pour trouver le poids de furfurol était 1,833.

$$\begin{aligned} & 21.4 \\ \text{On a } \frac{21.4}{1.833} &= 11 \text{ cgr. } 67, \text{ ce qui correspond à } 11,75 \times \\ 1,84 &= 21 \text{ cgr. } 47 \text{ de pentosanes, soit, pour les 100 gr. de} \\ \text{mucilage } \frac{21,47 \times 100}{6} &= 3,58 \% \text{ de pentosanes.} \end{aligned}$$

Si l'on exprime en xylanes (le seul pentose caractérisé dans la liqueur d'hydrolyse étant le xylose) on obtient un chiffre de 3,19 % de xylanes.

9° DOSAGE DES GALACTANES.

Le dosage a été effectué par pesée de l'acide mucique obtenu par oxydation nitrique ⁽¹¹⁾.

0 gr. 40 de mucilage sont dissous dans l'eau distillée (10 cm³). On ajoute 8 cm³ d'acide nitrique pur et on évapore au bain-marie bouillant jusqu'à réduction des deux tiers. Après vingt-quatre heures, l'acide mucique formé est recueilli sur un filtre taré et séché à 100-105°. On lave avec quelques Cm³ d'eau, on sèche à nouveau et on pèse.

Dans trois opérations nous avons obtenu : 0 gr. 0836, 0 gr. 084, 0 gr. 0756, soit en moyenne 0 gr. 0810 d'acide mucique. Le poids des galactanes s'obtient en multipliant par le facteur 1,333. On a donc, pour une prise d'essai de 0 gr. 40 : 0 gr. 1079, soit, pour 100 gr. : 26 gr. 975.

10° DOSAGE DES MANNANES.

Nous avons eu recours à la technique de BOURQUELOT et HÉRISSEY ⁽¹²⁾.

5 gr. de mucilage sont maintenus à l'ébullition avec 50 Cm³ de SO⁴H² à 2 % pendant quatre heures. La liqueur acide est neutralisée par CO³Ba, puis filtrée. Le filtrat est amené à 100 Cm³. A 20 Cm³ de ce filtrat on ajoute la solution acétique de phénylhydrazine.

Après huit heures de contact, on recueille le précipité, on le lave à l'alcool et à l'éther, on le sèche dans le vide sulfurique, puis pendant trente minutes, et on pèse.

Le poids de précipité, pour 1 gr. de mucilage, est de 0 gr. 66, 1 gr. de mannose donnant 1 gr. 50 de mannose-hydrazone, la proportion de mannose, pour 100 gr. de mucilage, est de 44.

(11) G. BERTRAND et P. THOMAS. — *Lpc. cit.*

(12) E. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur le dosage du mannose mélangé à d'autres sucres. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1899, (6^e s.), 10, pp. 206-209.

En résumé, le mucilage des graines de *Leucæna glauca* renferme :

Mannane (en mannose)	44	%
Galactanes	26,97	%
Xylanes	3,19	%
Acides uroniques.		

La constitution de ce mucilage le rapproche donc des mannogalactanes qui constituent les matières de réserve de nombreux « albumens cornés » de Légumineuses : *Geratonia Siliqua* L. ⁽¹³⁾, *Cassia Fistula* L. ⁽¹⁴⁾, *Medicago sativa* L., *Trigonella Fœnum-græcum* L. ⁽¹⁵⁾, *Trifolium repens* L. ⁽¹⁶⁾, *Gleditschia triacanthos* L., *Medicago Lupulina* L., *Lotus corniculatus* L., *Melilotus leucantha* Koch, *Indigofera tinctoria* L. ⁽¹⁷⁾.

Cependant, dans aucun de ces mucilages on n'avait signalé la présence de xylose, ni d'acides uroniques, dont les méthodes de caractérisation, à cette époque, n'étaient pas encore connues.

II. — Les Sucres.

De nombreux auteurs ont déjà étudié la composition glucidique des graines de Légumineuses.

En 1909, Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL ont extrait du raffinose des semences d'*Erythrina fusca* Lour., et d'*En-*

(13) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la composition de l'albumen de la graine de Caroubier (I et II). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1899 (6^e s.), 10, pp. 153-160 et 249-255.

(14) Em. BOURQUELOT. — Etude chimique et physiologique de la graine de Canéfier. *Vol. jubil. de la Soc. de Biol.*, 1900, p. 338.

(15) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Les hydrates de carbone de réserve des graines de Luzerne et de Fenugrec. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1900 (6^e s.), 11, pp. 589-595.

(16) H. HÉRISSEY. — Sur l'hydrate de carbone de réserve de la graine de *Trifolium repens*. *C. R. Ac. Sc.*, 1900, 130, pp. 1719-1721.

(17) M. GORET. — Etude chimique et physiologique de quelques albumens cornés de graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1901.

tada scandens Benth. ⁽¹⁸⁾. En 1910, L. CRÉTÉ étudia le nété (*Parkia africana* R. Br.), dont les graines renferment : saccharose, glucose, lévulose, raffinose, mélibiose et galactose ⁽¹⁹⁾. En 1912, G. TANRET a découvert la présence de stachyose dans les Pois ridés ⁽²⁰⁾. En 1924, H. HÉRISSEY et R. J. SIBASSIÉ ⁽²¹⁾, et plus tard SIBASSIÉ ⁽²²⁾ ont effectué des recherches sur les glucides contenus dans diverses graines de Légumineuses. Un travail de M. BRIDEL et Mlle C. BOURDOUIL ⁽²³⁾, en 1932, a donné des précisions sur les glucides contenus dans les Pois et sur leur évolution au cours de la formation de la graine.

Nous avons tenté d'effectuer l'extraction, la caractérisation et l'identification des sucres contenus dans les graines de *Leucæna glauca* L.

Essai préliminaire. — Nous avons fait d'abord un essai pour rechercher les sucres réducteurs et les sucres hydrolysables.

100 gr. de graines, pulvérisées et dégraissées par l'éther de pétrole, ont été épuisées pendant une heure, à l'ébullition à reflux, avec 500 Cm³ d'alcool à 80 °. La liqueur bouillante est jetée sur un filtre et l'on remplace l'alcool décanté par 500 Cm³ d'alcool à 70°. On épuise à nouveau pendant une heure. Les liqueurs alcooliques réunies sont distillées sous pression réduite jusqu'à consistance sirupeuse; le résidu est repris par de l'eau au bain-marie. Le volume

(18) Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6^e s.), 30, pp. 162-167.

(19) L. CRÉTÉ. — Le nété et quelques autres *Parkia* de l'Afrique occidentale. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1910.

(20) G. TANRET — Sur la présence du stachyose dans le haricot et les graines de quelques autres Légumineuses. *Bull. Soc. chim.*, 1913, (4^e s.), 13, pp. 176-182.

(21) H. HÉRISSEY et R. J. SIBASSIÉ. — Recherches biochimiques sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine, contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, pp. 759-769.

(22) J. SIBASSIÉ. — Recherches sur les glucides contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1927.

(23) M. BRIDEL et Mlle C. BOURDOUIL. — Sur l'évolution des glucides au cours de la formation de la graine de deux variétés de Pois. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, 14, pp. 214-222.

de la liqueur aqueuse est complété, après filtration et refroidissement, à 300 Cm³, et on ajoute quelques Cm³ de toluène. On opère donc ainsi sur une liqueur dont 300 Cm³ représentent 100 gr. de graines, soit un poids de graines égal au tiers du volume du liquide.

Dans cette liqueur, nous avons constaté, à l'aide du réactif de FEHLING, la présence de corps réducteurs dont la teneur augmente notablement après hydrolyse acide. Les sucres réducteurs ont été dosés avant et après hydrolyse acide.

Dosage avant hydrolyse.

La liqueur est déféquée de la façon suivante : 25 Cm³ de liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 Cm³ et additionnés de 5 Cm³ d'Extrait de Saturne (sous-acétate de plomb), puis complétés à 50 Cm³ avec de l'eau distillée. On filtre. Sur 10 Cm³ de filtrat on dose la quantité de sucres réducteurs par la méthode de G. BERTRAND (24). Exprimée en glucose elle est de 1 mgr. 855, ce qui fait, pour 100 Cm³ de liqueur non déféquée :

$$1,855 \times 5 \times 2 = 18 \text{ mgr. } 55$$

et, pour 100 gr. de graines : $18,55 \times 3 = 55 \text{ mgr. } 65$.

Dosage après hydrolyse.

200 Cm³ de liqueur initiale sont hydrolysés par 100 Cm³ de SO⁴H² à 3 % en volume. L'ébullition est maintenue pendant deux heures, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux.

La liqueur d'hydrolyse correspond donc aux deux tiers de l'extrait primitif, soit à un poids de graines égal à

$$\frac{2 \times 1}{3 \times 3} = \frac{2}{9} \text{ de son volume.}$$

(24) G. BERTRAND. — Dosage des sucres réducteurs. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1907, 14, pp. 7-18.

La liqueur d'hydrolyse est neutralisée à l'aide de carbonate de baryum; sur le filtrat, on dose les sucres réducteurs comme précédemment, par la méthode de G. BERTRAND, sur 10 Cm³ de filtrat déféqué.

La quantité de sucres réducteurs, exprimés en glucose, est de 55 mgr., ce qui fait pour 100 Cm³ de liqueur d'hydrolyse non déféquée :

$$55 \times 2 \times 10 = 1.100 \text{ mgr.}$$

et pour 100 gr. de graines : $1.100 \times 4,5 = 4.950 \text{ mgr.}$

Les graines de *Leucæna glauca* renferment donc environ :

avant hydrolyse : 55 mgr., 6 % de sucres réducteurs (en glucose);

après hydrolyse : 4 gr., 95 % (en glucose).

Recherche des sucres par la méthode biochimique de BOURQUELOT.

Pour établir la nature de ces sucres, nous avons employé la méthode devenue maintenant classique pour la recherche des glucosides chez les végétaux : la méthode biochimique de BOURQUELOT, dont nous rappelons la technique.

Les organes végétaux à examiner sont tout d'abord stabilisés par l'alcool bouillant, en présence de CO³Ca, afin de neutraliser les acides organiques, éventuellement présents, qui pourraient provoquer l'hydrolyse des sucres hydrolysables. Après une heure d'ébullition, avec un réfrigérant à reflux, on recueille l'alcool et les organes sont épuisés de nouveau à deux reprises par l'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies, puis distillées sous pression réduite. Le résidu est repris au bain-marie par l'eau distillée. On emploie une quantité d'eau telle que *le volume final de la solution représente généralement le nombre de grammes d'organe employé*. Cette solution est filtrée. Sur une partie aliquote de cette liqueur, déféquée avec la solution officinale de sous-acétate de plomb, on détermine la déviation polarimétrique et la teneur en sucres réducteurs par la méthode de G. BERTRAND. Les ré-

sultats sont exprimés en glucose et rapportés à 100 gr. d'organes.

Les mêmes déterminations sont effectuées après action de l'invertine, puis de l'émulsine. Les variations dans la valeur de la déviation polarimétrique et dans la quantité de sucres réducteurs permettent de mesurer la valeur des dédoublements dus aux ferments employés.

A l'aide de ces résultats on détermine « l'indice de réduction enzymolytique ». Celui-ci représente la quantité de sucres réducteurs (exprimés en glucose) formée sous l'action du ferment employé, pour un changement de déviation de 1° d'arc. Les indices (indice invertine - indice emulsine) peuvent permettre sinon d'identifier le glucide contenu dans la liqueur d'expérience, du moins d'avoir une indication sur la nature des substances dédoublées.

Détail d'une expérience :

100 gr. de graines mûres sont soumises à la stabilisation, afin d'en détruire les ferments. Pour cela on emploie le procédé de BOURQUELOT, qui consiste à jeter les graines dans un litre d'alcool à 95° bouillant, sans interrompre l'ébullition. On maintient l'ébullition pendant une heure, après quoi la liqueur bouillante est versée sur un filtre.

Le liquide alcoolique est décanté, remplacé par 500 Cm³ d'alcool à 80° et l'on épuise à nouveau pendant une heure. La même opération est répétée encore une fois avec la même quantité d'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies et distillées dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse; le résidu est repris par de l'eau distillée chaude.

Après filtration et refroidissement le volume de la liqueur aqueuse est amené à 300 Cm³. On ajoute quelques gouttes de toluène pour empêcher les fermentations. Finalement on opère sur une liqueur dont 300 Cm³ représentent 100 gr. de graines, soit un poids de graines égal au tiers de son volume.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante : 25 Cm³ de cette liqueur sont mesurés exacte-

ment dans un ballon jaugé de 50 Cm³ et additionnés de 5 Cm³ d'extrait de Saturne (sous-acétate de plomb), puis complétés à 50 Cm³ avec de l'eau distillée. On filtre. Sur le filtrat on pratique l'examen polarimétrique, à la température de 20° et au tube de 2 décimètres :

$$\alpha = + 1^{\circ}, 42'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\alpha = + 3^{\circ}, 24'$$

Ce chiffre de déviation correspond à la liqueur initiale, dont 300 Cm³ correspondent à 100 gr. de graines.

La quantité de sucres réducteurs, exprimés en glucose et dosés par la méthode de G. BERTRAND, sur 20 Cm³ de liqueur déféquée, est de 1 mgr. 855, ce qui fait, pour 100 Cm³ de liqueur non déféquée :

$$1,855 \times 2 \times 5 = 18 \text{ mgr. } 55$$

et, pour 100 gr. de graines = 55 mgr. 65.

Examen après invertine. — La liqueur initiale est additionnée d'invertine, dans la proportion de 0 gr. 50 % et mise à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique reste constante (huit jours environ).

25 Cm³ de cette liqueur sont additionnés, comme précédemment, de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 Cm³. Après filtration, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 1^{\circ}, 14'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 2^{\circ}, 28'$$

ce qui correspond à la liqueur initiale, dont 300 Cm³ représentent 100 gr. de graines.

Pour une liqueur dont 100 Cm³ représentent 100 gr. de graines :

$$\rho = + 7^{\circ}, 24'$$

La quantité de sucres réducteurs, exprimés en glucose

et dosés sur 10 Cm³ de liqueur défectuée, est de 36 mgr. 5, ce qui fait pour 100 Cm³ de liqueur non défectuée :

$$36,5 \times 2 \times 10 = 730 \text{ mgr.}$$

et pour 100 gr. de graines = 2.190 mgr.

Recul de la déviation après invertine : 0°, 56' pour une liqueur au tiers : 168 minutes pour une liqueur poids pour volume.

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine :

$$2190 - 55,65 = 2134,35$$

$$\text{Indice invertine} = \frac{2134,35 \times 60}{168} = 762$$

Examen après émulsine. — La liqueur primitive est portée au bain-marie bouillant pendant vingt minutes pour détruire l'invertine, puis, après refroidissement, elle est additionnée dans la proportion de 0 gr. 25 % d'émulsine. On met alors la liqueur à l'étuve à + 30° et on l'y laisse jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus.

25 Cm³ de cette liqueur sont mesurés dans une fiole jaugée de 50 Cm³ et additionnés de 5 Cm³ de sous-acétate de plomb, on complète à 50 Cm³ avec de l'eau distillée et on filtre. Sur le filtrat on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 1^{\circ}, 04'$$

ce qui fait pour la liqueur non défectuée = + 2°, 08'. Pour la liqueur dont 100 cc. représentent 100 gr. de graines

$$\rho = + 6^{\circ}, 24'$$

La quantité de sucres réducteurs, exprimés en glucose et dosés sur 10 Cm³ de liqueur, est de 49 mg. 5, ce qui fait pour 100 Cm³ de liqueur non défectuée :

$$49,5 \times 2 \times 10 = 990 \text{ mg.}$$

et pour 100 gr. de graines : 2970 mg.

Recul de la déviation sous l'action de l'émulsine :

$$7^{\circ}24' - 6^{\circ}24' = 1^{\circ} = 60'$$

Sucre réducteur formé sous l'action de l'émulsine :

$$2970 - 2190 = 780 \text{ mg.}$$

$$\text{Indice émulsine : } \frac{780 \times 60}{60} = 780$$

Donc, sous l'influence de l'émulsine : augmentation de sucre réducteur et *recul* de la déviation (stachyose ou raffinose). (Il y aurait *retour* dans le cas d'hétérosides).

Les mêmes expériences ont été répétées sur d'autres lots de graines et ont donné les résultats suivants :

N° de de l'échantillon	Indice invertine	Indice émulsine
II	716	783
III	855	484
IV	638	520
V	684	719

Essai d'extraction des sucres.

L'essai biochimique nous ayant permis de déceler la présence de sucres, nous avons tenté d'extraire ceux-ci, afin de pouvoir éventuellement les identifier avec certitude.

Nous avons utilisé la méthode d'extraction à la baryte de TANRET ⁽²⁵⁾.

Cette méthode, mise au point par Ch. TANRET, repose sur la propriété que la plupart des polysaccharides possèdent de donner, avec l'hydrate de baryte (OH)²Ba une combinaison soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool fort.

Nous avons épuisé, par l'alcool à 60°, 5 kilos de graines pulvérisées (1 p. de graines et 5 p. d'alcool). La colature obtenue est amenée à consistance d'extrait sec par distilla-

(25) R. J. SIRASSIÉ. — Recherches sur les glucides contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1927.

tion sous pression réduite. Cet extrait est mis en solution dans 1000 Cm³ d'eau distillée. La solution obtenue est déféquée par une quantité convenable d'extrait de Saturne. On filtre, l'excès de sous-acétate de plomb est précipité par addition d'une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué (1 gr. SO⁴H² pur pour 5 Cm³ OH²), addition qui doit être faite de façon ménagée tout en refroidissant avec de la glace pour ne pas altérer les sucres. On sépare par filtration le sulfate de plomb formé. On triture le filtrat dans un mortier avec de l'hydrate de baryte : le léger excès d'acide sulfurique donne du sulfate de baryum insoluble, tandis que les sucres se combinent à la baryte et passent en solution dans l'eau. On élimine par filtration le sulfate de baryum et l'excès d'hydrate de baryte, qui n'a pas réagi ou ne s'est pas dissous.

La solution aqueuse, qui contient les sucres à l'état de combinaison, est additionnée de 3 à 4 volumes d'alcool à 90° jusqu'à cessation de précipité. Le précipité formé est recueilli sur un filtre Büchner, essoré, lavé avec un peu d'alcool à 90°. Il est ensuite mis en suspension dans 500 Cm³ d'eau distillée et décomposé par un courant lent de CO² pendant une journée entière. Les sucres libérés entrent en solution dans l'eau. La baryte précipite en partie à l'état de carbonate, une autre fraction restant en solution à l'état de bicarbonate. Ce dernier est transformé en carbonate par une ébullition de trois minutes environ. On filtre ; la solution finale est une solution aqueuse de sucres. On la distille à fond sous pression réduite. L'extrait obtenu est soumis à des reprises successives avec de l'alcool, dont on fait varier le titre et la quantité. Dans les liqueurs provenant des diverses reprises alcooliques filtrées, les cristaux se déposent peu à peu et peuvent être recueillis.

C'est ainsi que nous avons repris l'extrait à onze reprises par l'alcool bouillant à reflux, en faisant varier les titres et les volumes comme suit :

La première reprise avec 100 Cm³ d'alcool à 95°.

La deuxième reprise avec 100 Cm³ d'alcool à 90°.

De la troisième à la neuvième avec 100 Cm³ d'alcool à 85°.

La dixième et la onzième avec 100 Cm³ d'alcool à 80°.

Les liqueurs alcooliques, colorées légèrement en brun, ont laissé déposer au bout de quelques jours une masse sirupeuse et filante, s'agglomérant au fond des flacons. Ce dépôt a été séparé et l'on a amorcé la cristallisation des liqueurs par frottement des parois des flacons au moyen d'un agitateur de verre à extrémité rugueuse. Les liquides se sont troublés et peu à peu s'est formé un dépôt, d'aspect cristallin plus ou moins coloré, d'abord dans l'alcool des onzième, dixième et neuvième traitements, puis progressivement dans les autres liqueurs de la huitième à la troisième.

La première liqueur d'épuisement, complètement incolore, a donné quelques cristaux blancs, semblant différents de ceux obtenus à la suite des traitements ultérieurs.

Les cristaux recueillis étaient en trop petite quantité pour qu'on puisse espérer les purifier par recristallisation. Nous nous sommes borné à tenter d'obtenir une osazone, sur une solution aqueuse des cristaux précédents simplement lavés à l'alcool fort et à l'éther. Nous n'avons pu obtenir, avec la phénylhydrazine, qu'un très léger trouble.

Des essais plusieurs fois répétés ne nous ont jamais permis d'isoler les sucres et nous pouvons seulement supposer que la graine de *Leucæna glauca* renferme, à côté de saccharose, du raffinose ou du stachyose.

CHAPITRE III

ETUDE DES GLYCERIDES ET DES STEROLS

Extraction de la matière grasse.

Les graines de *Leucæna glauca* grossièrement pulvérisées au moulin, sont épuisées à chaud par de l'éther de pétrole ; ce procédé permet d'obtenir avec plus de rapidité et une quantité moindre de solvant un rendement sensiblement égal à celui que donne la lixiviation à froid.

On dispose les graines pulvérisées dans un appareil de SOXHLET, où elles sont épuisées par de l'éther de pétrole pendant douze heures, temps suffisant pour un épuisement complet de la drogue.

La liqueur étherée obtenue est concentrée par distillation ; on la laisse ensuite en contact avec du sulfate de sodium anhydre, pendant vingt-quatre heures. Après distillation de l'éther de pétrole, on obtient un extrait contenant la graisse totale des graines et les acides gras libres.

Douze kilos de graines ont ainsi été épuisés par portions de 600 grammes et nous ont donné 660 grammes de matière grasse brute, ce qui correspond à une teneur en matière grasse de 5,50 %.

Caractères de la matière grasse totale.

La matière grasse totale du *Leucæna* constitue à la température ordinaire un liquide huileux, légèrement visqueux, de couleur vert brunâtre foncé, d'odeur assez forte.

La couleur est due à la présence d'une assez grande quantité de chlorophylle qui, s'éliminant peu par absorption sur charbon activé, rend difficile la détermination de certaines constantes physiques, comme l'indice de réfraction.

Par les méthodes classiques (1) nous avons obtenu les chiffres suivants :

Indice d'acidité	13,2
Indice de saponification	189
Indice d'iode	99
Indice d'acétyl	0

Les mêmes déterminations ont été effectuées sur la matière grasse extraite de façon semblable, de deux lots différents de graines fraîches. Les résultats sont les suivants :

	I	II
Indice d'acidité	2,5	5,62
Indice de saponification	188	190,2
Indice d'iode	100	99,6
Indice d'acétyl	0	0

La différence essentielle réside dans les indices d'acidité. Celui de la matière grasse extraite du lot de graines anciennes étant plus élevé, il en ressort qu'une certaine quantité d'acides gras a été libérée au cours du vieillissement de la graine.

Nous pouvons d'autre part conclure, de l'examen de ces résultats, que la matière grasse du *Leucæna* ne renferme pas d'acides-alcools (indice d'acétyl = 0), mais contient une notable proportion d'acides non saturés (indice d'iode = 99-100).

Suivant les méthodes classiques, nous avons procédé à l'étude de la composition de cette matière grasse. Celle-ci, par saponification, donne deux groupes de produits :

(1) Par méthodes classiques, nous entendons celles qui figurent à la Pharmacopée Française de 1937.

- 1° Un savon d'où l'on extrait les acides gras ;
- 2° Une partie insaponifiable.

Saponification de la matière grasse.

Six cents grammes de corps gras sont saponifiés à chaud par un excès de solution de OHK alcoolique, selon les proportions suivantes : 420 gr. de OHK caustique dissoute dans 300 Cm³ d'eau, 900 Cm³ d'alcool à 90 °.

On chauffe à ébullition à reflux pendant quatre heures. Ce temps est suffisant pour que la saponification soit complète, ce qu'on reconnaît à ce qu'une prise d'essai ne précipite plus par addition d'eau.

On chasse l'excès d'alcool par distillation dans le vide, puis on étend d'eau distillée le liquide obtenu. Le mélange est alors épuisé en milieu alcalin, par agitations répétées, avec de l'éther jusqu'à ce que celui-ci ne se colore plus, pour extraire les matières insaponifiables. Cette extraction est très longue, car l'agitation de la solution savonneuse avec l'éther donne naissance à des émulsions tenaces, qui ne disparaissent que très lentement.

L'éther est coloré en jaune. De nombreux épuisements successifs sont nécessaires pour obtenir une liqueur éthérée incolore.

La solution éthérée d'insaponifiable est alors lavée à l'eau distillée jusqu'à ce qu'elle ne présente plus de réaction alcaline au tournesol, puis laissée en contact pendant vingt-quatre heures avec du sulfate de sodium anhydre, enfin distillée.

On obtient ainsi 20 gr. 11 de résidu constituant l'insaponifiable *brut*. C'est une masse pâteuse amorphe, de couleur jaune orangé, possédant une odeur particulière et qui représente environ 3,4 % du poids de corps gras mis en œuvre.

La liqueur aqueuse, qui contient les sels de K des acides

gras est alors acidifiée par SO^4H^2 dilué. Les acides gras sont ainsi libérés ; on les extrait par épuisements successifs avec de l'éther. Cette nouvelle solution éthérée, lavée à l'eau distillée jusqu'à réaction neutre au tournesol, séchée sur du sulfate de sodium anhydre, est finalement distillée. Elle laisse un résidu qui représente les acides gras totaux, pesant 378 grammes ; ce poids correspond à 63 % de la matière grasse totale.

Les eaux-mères sont neutralisées et évaporées à sec au bain-marie. Sur le résidu salin nous avons caractérisé le glycérol par formation d'acroléine.

I. — Etude des acides gras.

Acides gras totaux.

Les acides gras totaux, qui représentent, nous l'avons dit, 63 % de la matière grasse du *Leucæna* constituent une masse solide, homogène, verdâtre, d'odeur non définie. Ils ont les caractéristiques suivantes :

Point de fusion	30°-32°
Indice de saturation	189
Indice de saponification	189
P. M. moyen	296
Indice d'iode	97
Indice d'acétyle	0
Indice de REICHERT-MEISSL	1,2

De l'examen de ces indices nous pouvons déjà déduire que le mélange d'acides gras totaux :

- 1° ne contient pas d'acides-alcools ;
- 2° ne contient que des traces d'acides volatils ;
- 3° semble constitué par un mélange d'acides gras saturés et d'acides gras non saturés, avec prédominance de ces derniers (Pt de fusion peu élevé, indice d'iode assez élevé).

Séparation des acides saturés et des acides non saturés.

Nous avons réalisé cette séparation en appliquant la méthode de VARENTRAPP (2). Elle est basée sur la différence de solubilité dans l'éther sulfurique des sels de plomb : les sels des acides non saturés sont solubles dans l'éther, ceux des acides saturés sont insolubles.

Soixante-dix-sept grammes d'acides gras totaux ont été transformés en sels de potassium par chauffage avec une solution alcoolique de OHK. On élimine l'alcool par distillation. on ajoute de l'eau et on neutralise aussi exactement que possible. On ajoute alors, par petites portions, et en agitant constamment, une solution aqueuse bouillante d'acétate de plomb et on porte à l'ébullition. On obtient une masse blanche de consistance emplastique, dont on élimine l'excès de plomb par des lavages successifs à l'eau chaude. On sèche dans le vide sulfurique.

Les sels de plomb sont repris par l'éther sulfurique. Après séjour de vingt-quatre heures à la glacière, on sépare par filtration les sels insolubles, qu'on lave avec de l'éther, de la solution éthérée. Les acides gras sont libérés de leurs combinaisons plombiques par addition d'acide chlorhydrique et dissous dans l'éther. On les recueille finalement après évaporation du solvant, et dessiccation dans le vide sulfurique.

On a obtenu, à partir de 77 grammes d'acides totaux : 21 grammes d'acides saturés, 47 grammes d'acides non saturés, soit, environ 31 % des premiers, 65 % des seconds.

Etude des acides gras non saturés.

Leur mélange se présente sous forme d'un liquide visqueux, de couleur jaune d'or, d'odeur faible, et possède les constantes suivantes :

(2) D'après J. LEWKOWITSCH, 1929, Tome I, pp. 776-787.

Indice de saturation	185
P. M. moyen	302
Indice d'iode	113

La composition de ce mélange a été établie selon la méthode de HEHNER et MITCHELL (3), précisée par FARNSTEINER, qui est basée sur les différences de solubilité dans l'éther et l'éther de pétrole des dérivés bromés des acides gras non saturés.

Insoluble dans l'éther : dérivé bromé de l'acide linolé-
nique.

Solubles dans l'éther	{	Dérivé bromé de l'acide lino- léique ; insoluble dans l'éther de pétrole.
		Dérivé bromé de l'acide oléi- que ; soluble dans l'éther de pétrole.

OBTENTION DES DÉRIVÉS BROMÉS

Dix grammes d'acides gras liquides sont dissous dans 20 Cm³ de chloroforme ; la solution est refroidie dans un mélange de glace et de sel ; on ajoute alors goutte à goutte, et en agitant, une solution chloroformique de brome à 5 % jusqu'à ce qu'une coloration brune persiste. On laisse au repos pendant vingt-quatre heures à la glacière. On enlève alors l'excès de brome en lavant dans une ampoule à décantation la solution chloroformique avec une solution d'hypo-sulfite de sodium ; on lave ensuite à l'eau distillée, on sèche sur du Cl²Ca desséché et on distille le chloro-

(3) Otto HEHNER et C.-A. MITCHELL. — Contribution to the chemistry of drying oils ; with a method for the examination of linseed Oil. *The Analyst*, 1898, 23, pp. 310-318.

forme. On obtient 19 gr. d'une masse pâteuse, qui est reprise par quantité suffisante d'éther.

Une très petite quantité de produit ne se dissout pas. Isolée par filtration elle se présente sous forme d'une poudre blanc-grisâtre. Son point de fusion, 170° , voisin de celui de l'acide hexabromostéarique (181°) semble indiquer qu'il existe dans les acides gras du *Leucæna* des traces d'acide linoléique.

La solution éthérée, filtrée, est évaporée. On obtient un liquide épais, brun-noir, que l'on reprend à chaud par de l'éther de pétrole. La solution est abandonnée vingt-quatre heures à la glacière. Il s'est alors formé un précipité qui est recueilli par filtration et lavé avec un peu d'éther de pétrole. Son point de fusion 111° est sensiblement celui du dérivé bromé de l'acide linoléique ($113-114^{\circ}$).

Le filtrat est évaporé; il reste comme résidu un liquide huileux, épais, noirâtre, qui semble correspondre au dérivé bromé de l'acide oléique.

Pour s'assurer de la nature de cet acide, on tente de le transformer en acide dioxystéarique.

Dans ce but, on dissout 5 gr. de ce liquide huileux dans 50 Cm³ d'acide acétique cristallisable, et la solution obtenue est chauffée pendant deux heures au bain d'huile, avec 2 gr. d'acétate d'argent, avec un tube à reflux. Le dérivé acétylé est repris par l'éther, lavé à l'eau, puis saponifié par la potasse alcoolique. En acidifiant par l'acide chlorhydrique la solution savonneuse, on libère un corps cristallisé qui, après purification par recristallisation dans l'alcool à 90° , se présente sous forme de petits prismes aplatis. Leur point de fusion, $130^{\circ},5$ se rapproche du point de fusion théorique de l'acide dioxystéarique (136°). Il semble donc fort probable que le liquide huileux obtenu par évaporation de l'éther de pétrole est bien le dérivé bromé de l'acide oléique.

19 gr. de dérivés bromés totaux, provenant de 10 gr. d'acides gras saturés totaux, renferment :

0 gr. 02 de dérivé hexabromé

3 gr. 2 de dérivé tétrabromé

15 gr. 6 de dérivé dibromé.

Donc 100 gr. d'acides gras non saturés totaux donnent 190 gr. de dérivés bromés totaux, comprenant : 156 gr. de

dérivé bromé correspondant à $\frac{156 \times 282}{442} = 86$ gr. d'acide oléique.

32 gr. de dérive tétrabromé correspondant à $\frac{32 \times 280}{600} = 14$ gr. d'acide linoléique.

0 gr. 20 de dérivé hexabromé correspondant à :

$\frac{0,20 \times 278}{758} = 0$ gr. 07 d'acide linoléique.

Les acides non saturés de la matière grasse du *Leucaena glauca* sont donc constitués par :

des traces d'acide linoléique,

14 % environ d'acide linoléique,

86 % environ d'acide oléique.

Acides gras saturés.

Ils constituent 31 % des acides totaux.

Ils forment une masse blanche, cristallisant dans l'acétone.

Point de fusion moyen 49° - 50°

Indice de saturation 202

P. M. moyen 277

L'ensemble des acides gras saturés a été soumis à la distillation fractionnée sous pression réduite (3 à 4 millimètres). On a obtenu les diverses fractions suivantes, dont on a déterminé l'indice de saturation et le poids moléculaire.

	Température	Indice de saturation	Poids moléculaire
1.....	190°-200°	199,7.....	280
2.....	200-205°	199,5.....	280
3.....	205-210°	201,8.....	278
4.....	210-220°	193,1.....	282
5.....	220-240°	193,1.....	299

Une nouvelle distillation a permis de séparer de la fraction 5 précédente deux nouvelles fractions :

5a.....	190,3.....	294
5b.....	182,7.....	306

La fraction 5b fond à 77°,5-78°.

D'après ces résultats, on doit admettre que les acides saturés sont constitués par un mélange d'acide stéarique (P.M. = 284) et d'acide arachidique (P.M. = 312).

II. — Insaponifiable.

Par épuisement du savon provenant de 600 gr. de corps gras, nous avons obtenu 20 gr. 4 de résidu amorphe jaune orangé, constituant l'insaponifiable brut (soit 3,4 % du poids de corps gras mis en œuvre).

Cette masse pâteuse est dissoute dans l'acétone à température voisine de 40°. Il se dépose par refroidissement une petite quantité d'un produit amorphe, grisâtre, constitué vraisemblablement par un mélange de carbures. La solution acétonique est distillée et le résidu est repris à chaud par de l'alcool à 90°. Par concentration et refroidissement, il se forme des cristaux colorés que nous avons recueillis sur un filtre en verre à plaque filtrante. Les cristaux sont de nouveau dissous à chaud dans l'alcool à 90°, puis séparés par une nouvelle cristallisation et une nouvelle filtration, et ainsi un grand nombre de fois.

Au cours des cristallisations successives, les impuretés et les pigments « grimpent » le long des parois du cristalliseur. Ce produit de grimpage, isolé par des cristallisations dans l'éther de pétrole, se présente sous l'aspect d'une masse résineuse amorphe, brun rouge, dont la petite quantité recueillie n'a pas permis d'effectuer l'étude.

Après avoir ainsi fait pendant plusieurs semaines de nombreux fractionnements, nous avons obtenu des cristaux de moins en moins colorés et finalement blancs, lamellaires, d'aspect soyeux, présentant les réactions classiques de LIEBERMANN et de SALKOWSKI. Nous avons donc isolé à partir de l'insaponifiable total un stérol cristallisé, dont nous avons déterminé les principales constantes.

Le *point de fusion* est de 134° - 136° (méthode du tube capillaire).

Le *pouvoir rotatoire spécifique* (déterminé sur une solution chloroformique renfermant 0 gr. 657 de produit dans 30 Cm³) est de -36° à -38° .

Indice d'iode.

1^o MÉTHODE DE HÜBL (4).

Une prise d'essai voisine de 0 gr. 50 exactement pesée, est dissoute dans 15 Cm³ de chloroforme et additionnée de 20 Cm³ de solution alcoolique d'iode à 50 ‰ et 20 Cm³ de solution de Cl²Hg à 60 ‰. On mélange et laisse deux heures à l'abri de la lumière. On ajoute alors 75 Cm³ d'eau, puis 25 Cm³ de solution d'IK à 15 % et l'on titre l'iode resté libre avec une solution d'hyposulfite de Na N/10 en présence d'empois d'amidon à la fin du dosage. Les mêmes opérations sont effectuées sur un mélange témoin, ne renfermant pas de stérol. La différence de l'iode trouvé dans la liqueur témoin et dans la solution contenant le stérol, permet de calculer l'indice d'iode.

Nous trouvons 73,2.

(4) HÜBL. — Détermination de l'indice d'iode. D'après J. LEWKOWITSCH, 1929, I, pp. 587-604.

2° MÉTHODE DE HANUS.

Cette méthode nous a donné un résultat à peu près semblable, quoiqu'un peu élevé.

0 gr. 10 de substance exactement pesés sont dissous dans 10 Cm³ de chloroforme dans un flacon bouchant à l'émeri. On ajoute 25 Cm³ de liqueur de HANUS (8 gr. de brome + 12 gr. 70 d'iode dans un litre d'acide acétique). Après une heure de contact, à l'abri de la lumière, on ajoute 20 Cm³ de solution d'IK à 10 % et on titre l'excès d'iode par l'hyposulfite. Comme dans la méthode précédente, on fait un essai comparatif.

L'indice trouvé est de 75,2.

3° MÉTHODE DE ROSEMMUND (5).

La méthode de ROSEMMUND est, selon Max ZELLER (5), la plus précise. Le réactif de ROSEMMUND a la composition suivante :

Brome	8 gr.
Pyridine	8 gr.
SO ⁴ H ² concentré	10 gr.
Acide acétique	1 litre

0 gr. 10 de stérol sont dissous dans 10 Cm³ de chloroforme. Après addition de 20 Cm³ de réactif, on agite le mélange et on laisse reposer pendant 5 minutes exactement, à l'abri de la lumière. On ajoute ensuite 20 Cm³ d'une solution d'IK à 10 % et l'on titre l'excès d'iode par l'hyposulfite.

L'indice trouvé est 59,4.

Ces chiffres nous permettent de penser que notre produit est un sitostérol monoéthylénique, les variations des

(5) Max ZELLER. — Etude sur la composition chimique du style de Maïs. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1937, p. 84.

résultats et leur discordance avec l'indice d'iode théorique du sitostérol provenant de deux facteurs : l'impureté du produit d'une part, les actions secondaires de l'iode d'autre part, en particulier dans la méthode de HANUS : formation d'acide iodhydrique et de dérivés bromés substitués.

Le tableau suivant permet, en effet, de se rendre compte des constantes caractérisant les sitostérols (6) :

	Formule	Point de fusion Stérol	Pouvoir rotatoire spécif.	Indice d'iode	Point de fusion acétate	Point de fusion benzoate
Sitostérol.....	C ²⁹ H ⁵⁰ O	137-138	-33°9	61,3 (monoéthylénique)	127°	145°5
α.....		135-136	-13°4	—	127-128	145°5
β.....		139-140	-36°1	—	127-128	145°5
γ.....		142°	-44°8	—	143°	145°5
Stigmastérol ..	C ²⁹ H ⁴⁸ O			123,3 (diéthylénique)		
Sitostanol.....	C ²⁹ H ⁵² O			0		
Stigmastanol..	C ²⁹ H ⁵² O			0		

Pour le caractériser de façon plus certaine, nous avons préparé l'acétate et le benzoate de notre stérol.

Préparation de l'acétate.

1 gr. de stérol est chauffé en réfrigérant à reflux avec 20 Cm³ d'anhydride acétique pendant une heure. Après refroidissement, le produit est repris par l'éther et lavé à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage. Le résidu étheré est alors recristallisé à plusieurs reprises dans l'alcool à 95°. Il se forme de grands cristaux lamellaires, qui, après purification par de nombreuses cristallisations et desiccations dans le vide sulfurique, ont un point de fusion de 125°.

(6) Max ZELLER. — *Loc. cit.*

Préparation du benzoate.

Pour obtenir le benzoate, 2 gr. de stérol sont traités par 30 Cm³ de chlorure de benzoyle à l'ébullition à reflux. Après deux heures d'ébullition, le mélange est versé dans de l'eau glacée, additionné d'alcool, puis prudemment, de soude diluée. On extrait à l'éther. Le résidu de distillation des liquides étherés, repris par l'alcool méthylique, donne un précipité granuleux que l'on essore et fait recristalliser dans l'alcool méthylique, puis dans l'éther anhydre. Le benzoate de stérol ainsi obtenu, purifié par de nombreuses cristallisations successives, se présente en feuillets incolores, brillants, fondant à 143°₅.

Nous avons saponifié ce benzoate par une petite quantité de OH Na caustique alcoolique. Nous avons alors isolé la petite quantité du stérol libéré, puis l'avons soumise à de nombreuses cristallisations dans l'alcool, enfin dans un mélange alcool méthylique et éther acétique (?).

Etant donnée la petite quantité de produit restant à la fin de cette série de manipulations, nous n'avons pu en déterminer que le point de fusion par la méthode du tube capillaire. Il est un peu plus élevé que celui trouvé primitivement = 138°

En résumé, de l'insaponifiable brut, nous avons extrait un corps cristallisé ayant les caractéristiques suivantes :

Point de fusion ... 134-136°.

138° après purification à l'état de benzoate, puis saponification de ce dernier.

Pouvoir rotatoire spécifique (Sol. chloroformique)

= — 36°5 à — 38°

(7) A. CASTILLE et Mile E. RUPPOL. — Essais de purification du sitostérol. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, 19, pp. 1716-1730.

Indice d'iode	59,4 (ROSEMMUND)
Point de fusion acétate . .	124°5-125°
Point de fusion benzoate .	143°5

En comparant ces chiffres avec les constantes théoriques, nous pouvons penser qu'il semble s'agir d'un sitostérol monoéthylénique, dont les caractéristiques se rapprochent de celles du sitostérol β . Cependant, nous ne pouvons conclure de façon précise qu'il s'agit d'un mélange de sitostérols ou de l'un d'entre eux seulement. D'ailleurs, les travaux de A. CASTILLE et Mlle E. RUPPOL tendent à prouver qu'il n'existerait qu'un seul sitostérol. Ces auteurs, travaillant sur le sitostérol isolé de la matière grasse des radiceles d'orge, ont en effet établi qu'en combinant la benzoylation et les cristallisations du produit à l'état d'acétate, on peut obtenir un stérol très pur, qui correspond au γ sitostérol d'ANDERSON. « Les affirmations d'ANDERSON, disent ces auteurs, relatives à l'existence de trois variétés isomères du sitostérol, sont prématurées et insuffisamment fondées ».

CHAPITRE IV

ETUDE DES PROTIDES

La détermination de l'azote total des graines de *Leucaena glauca* montre qu'elles renferment une assez forte proportion de substances azotées : 4 gr. 6 à 4 gr. 8 % d'azote total. Celles-ci sont concentrées dans l'amande, qui renferme 8 gr. 8 % d'azote total, dont une petite partie est constituée par le leucæmol.

Notre étude a porté principalement sur l'isolement des matières protéiques. Leur séparation est assez laborieuse, étant donné que les liqueurs aqueuses d'épuisement de la graine totale renferment, en même temps que les matières protéiques, une proportion plus ou moins élevée de mucilage qui, comme elles, est précipitable par l'alcool.

Pour ne pas être gêné par le mucilage du tégument dans l'étude des matières azotées, nous avons séparé les amandes d'un certain nombre de graines ; celles-ci sont mises quelques heures dans de l'eau froide, la plupart d'entre elles se gonflent et le tégument est alors facilement détaché de l'amande.

C'est avec ces amandes encore humides que nous avons fait, après détermination du taux de l'humidité, certains essais pour connaître la proportion de matières protéiques existant dans l'ensemble des matières azotées de l'amande.

Trois lots d'amandes pulvérisées sont épuisés :

le 1^{er} par de l'eau neutre toluénée,

le 2^e par de l'eau additionnée de 0 gr. 50 % NaOH,

le 3^e par de l'eau renfermant 5 gr. % de ClNa.

Sur chacune des liqueurs, nous avons :

- 1) dosé l'azote total,
- 2) précipité les matières protéiques par l'acide trichloracétique, puis dosé l'azote restant dans le filtrat,
- 3) calculé par différence la teneur en substance albuminoïdique.

Nous avons donc tout d'abord déterminé le taux d'humidité par dessiccation à l'étuve jusqu'à poids constant d'où la teneur en substance sèche, celle-ci est de 32 % environ. Puis, de ces amandes nous avons fait trois lots de 20 gr. chacun. Chaque lot est finement pulvérisé au mortier avec du sable. La masse obtenue est placée dans un flacon avec environ 160 Cm³ d'eau neutre toluénée pour le 1^{er} lot, de solution à 5 gr. % de ClNa et de liqueur alcaline à 0 gr. 50 % de OHNa, pour les deux autres lots. On laisse en contact pendant 48 heures en agitant fréquemment. L'épuisement des amandes étant achevé, on recueille les liqueurs par centrifugation et filtration au BÜCHNER. On lave le résidu et le filtre avec le liquide d'épuisement et, avec le même liquide, on complète les liqueurs à 200 Cm³. Chacune de ces liqueurs est telle que 200 Cm³ correspondent à 20 gr. d'amandes non desséchées.

Détail d'une expérience.

Voici le détail de la marche suivie pour l'une d'entre elles (liqueur obtenue par épuisement avec une solution de OHNa à 0,50 %).

1° *Destruction de la matière organique.* — 20 Cm³ de liqueur sont placés dans un ballon de KJELDAHL avec

Sélénium	0,10
SO ⁴ K ²	8 gr.
SO ⁴ H ² pur	15 Cm ³

On chauffe d'abord doucement pour éviter le débordement du liquide qui mousse abondamment, puis l'on élève la température quand le liquide commence à se décolorer, et l'on maintient l'ébullition pendant une heure après déco-

loration. La destruction de la matière organique étant achevée, on recueille la liqueur sulfurique dans un ballon jaugé de 100 Cm³, on rince le ballon avec de l'eau distillée et l'on complète à 100 Cm³. Les 100 Cm³ de liqueur sulfurique correspondent à 20 Cm³ de liqueur initiale, soit 2 gr. d'amandes humides ou 0 gr. 64 d'amandes sèches.

2° *Dosage de l'ammoniaque.* — *Calcul de l'azote.* — Il s'effectue au moyen de l'appareil de PREGL sur 10 Cm³ de liqueur sulfurique qui correspondent à 0 gr. 064 d'amandes sèches. On recueille l'ammoniaque dans 20 Cm³ de SO⁴H² N/50. L'excès d'acide est titré avec une solution de OHNa N/50 en présence de rouge de méthyle ; on trouve 6 Cm³ de OHNa N/50.

Donc, 13 Cm³ de SO⁴H² N/50 ont été utilisés. Or, 1 Cm³

0 gr. 014

de SO⁴H² N/50 correspond à ——— d'azote,

50

0,014 × 13,9

donc 0 gr. 064 d'amandes sèches cèdent ——— d'azote

50

soit 0 gr. 00329, à la solution de OHNa à 0,5 % ;

100 gr. d'amandes (sèches) cèdent à la solution de OHNa à 0,5 %, 6 gr. 08 d'azote.

3° *Dosage de l'azote après défécation trichloracétique.* — La liqueur alcaline est alors déféquée par addition de son volume de solution d'acide trichloracétique à 20 %. Sur le filtrat désalbuminé (qui correspond à un poids d'amandes égal au 1/20^e de son volume), nous effectuons un dosage d'azote dans les mêmes conditions que précédemment.

Destruction organique sur 25 Cm³ de filtrat (qui cor-

1,25 × 32

respondent à 1 gr. 25 d'amandes humides ou ———

100

= 0 gr. 40 d'amandes sèches).

Dosage de l'ammoniaque sur 10 Cm³ de liqueur sulfurique (soit 0 gr. 04 d'amandes sèches). On recueille dans 20 Cm³ de SO⁴H² N/50, 16 Cm³ de Na OH N/50 sont nécessaires pour neutraliser l'excès d'acide, donc 4 Cm³ de SO⁴H² N/50 ont été utilisés.

L'azote correspondant à 0 gr. 04 d'amandes sèches est

$$\text{donc} = \frac{0.014 \times 4}{50} = 0.00112 \text{ gr.}, \text{ soit pour 100 grammes,}$$

$$\frac{0.00112 \times 100}{0.04} = 2 \text{ gr. } 80.$$

L'azote protéique, pour 100 gr. d'amandes sèches = 6.08 — 2.80 = 3.31, ce qui donne, en protéines : 3.31 × 6.25 = 20 gr. 68.

Les mêmes opérations ont été effectuées pour les liqueurs provenant de l'épuisement des amandes par l'eau toluénée d'une part, par l'eau additionnée de 5 % de ClNa d'autre part.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

1° 100 gr. d'amandes séchées, qui renferment 8.8 % d'azote total, cèdent :

— à l'eau neutre toluénée : 2 gr. 47 d'azote, soit 28.07 % de leur azote total,

— à l'eau + 5 % ClNa : 4 gr. 69 d'azote, soit 53,3 % de leur azote total,

— à l'eau alcaline (0.50 % de NaOH) : 6 gr. 11 d'azote, soit 69.43 % de leur azote total.

2° Après précipitation trichloracétique, il reste dissous :

— dans l'eau neutre toluénée : 2 gr. 11 d'azote non protéique, soit 23.97 % de l'azote total des amandes.

— dans l'eau + 5 % ClNa : 2 gr. 72 d'azote non protéique, soit 30.90 % de l'azote total des amandes.

— dans l'eau alcaline + 0.50 % NaOH : 2 gr. 80 d'azote non protéique (31.8 % de l'azote total des amandes).

3° 100 gr. d'amandes (sèches) cèdent donc :

— à l'eau neutre toluénée : 0 gr. 36 d'azote albuminoïdique, soit 2 gr. 25 de mat. albuminoïdes (4,1 % de l'azote total),

— à l'eau + 5 % ClNa : 1 gr. 97 d'azote albuminoïdique, soit 12 gr. 31 de mat. albuminoïdes (22,4 % de l'azote total),

— à l'eau + 0,50 % NaOH : 3 gr. 31 d'azote albuminoïdique, soit 20 gr. 68 de mat. albuminoïdes (37,6 % de l'azote total).

Des recherches effectuées de semblable façon en épuisant les amandes par une solution de ClNa à 10 % ont donné sensiblement les mêmes résultats qu'avec la solution de ClNa à 5 %

L'acide trichloracétique à 20 % dissout 2 gr. 07 d'azote non protéique, quantité de peu inférieure à celle de l'azote non protéique passant dans l'eau toluénée.

Ces résultats sont réunis dans le tableau suivant :

	Azote dissous	% de N total des amandes	N non protéique	N pro- téique	Mat. al- bumi- noïdes N × 6,25
Eau toluénée.....	2 gr. 47	28 %	2 gr. 11	0 gr. 36	2 gr. 25
ClNa à 5 %.....	4 gr. 69	53,3 %	2 gr. 72	1 gr. 97	12 gr. 31
ClNa à 10 %.....	4 gr. 70	53,4 %	2 gr. 68	2 gr. 02	12 gr. 62
OHNa à 0,50 %.....	6 gr. 11	69,4 %	2 gr. 80	3 gr. 31	20 gr. 68
Acide trichloracétique à 20 % ..	2 gr. 07	23,5 %	2 gr. 07	0	0

Si l'on admet la distinction habituelle parmi les protéines, d'albumines, solubles dans l'eau et les solutions salines diluées, de globulines solubles seulement en présence de 5 à 10 % de ClNa, de glutélines solubles dans les

liqueurs alcalines, il existerait donc dans la graine de *Leucæna glauca*: des albumines vraies, solubles dans l'eau, des globulines, solubles seulement en présence de ClNa , des glutélines, solubles seulement en milieu alcalin.

Il ne nous a pas été possible d'effectuer la séparation complète des diverses protéines. Nous nous sommes borné à tenter d'isoler la globuline. Nous rapportons ci-après les résultats de nos essais, pour incomplets qu'ils soient.

Essai de préparation d'une globuline.

Nous nous sommes inspiré des indications données par OSBORNE et STRAUSS (1).

100 gr. environ d'amandes sont séchés dans le vide sulfurique et dégraissés partiellement par épuisement à l'éther au SOXHLET. Après ce premier dégraissage, elles sont pulvérisées et soumises à un deuxième épuisement éthéré.

La poudre dégraissée obtenue est alors mise à macérer dans une solution de ClNa à 5 % (5 parties), préalablement neutralisée, vis-à-vis du papier de tournesol sensible, avec de l'eau de baryte. Pour rendre l'extraction plus complète, le mélange est brassé pendant plusieurs heures à l'aide d'un agitateur mécanique. La masse est alors recueillie sur une toile, puis exprimée. Le liquide fortement trouble ainsi obtenu, est filtré au BÜCHNER sur de la pâte de papier, jusqu'à obtention d'un liquide limpide, ce qui demande beaucoup de temps.

Le filtrat est alors additionné de sulfate d'ammonium cristallisé, à raison de 760 gr. ‰. Dans cette opération, nous avons ajouté, pour 375 Cm^3 de solution, 285 gr. de sulfate d'ammonium, que nous faisons dissoudre par de nombreuses agitations successives. Il se forme un précipité assez important, grumeleux, qui est recueilli par centrifugation et lavé avec une solution de sulfate d'ammonium à 760 gr. ‰. On l'introduit alors dans un tube à dialyser et on le soumet à la dialyse contre l'eau ordinaire,

(1) OSBORNE et STRAUSS. — Einfache Eiweissstoffe, Proteine (ABDERHALDEN, I, 8, 1922, p. 383).

pendant 5 jours. L'eau, renfermant des sels minéraux, dissout la globuline en formant une solution brun rouge, la globuline ayant retenu une petite quantité de leucæmol. On verse cette solution en mince filet dans de l'acétone contenue dans un vase à précipiter. La globuline précipite sous forme d'une masse visqueuse adhérant aux parois. Nous avons fait choix de l'acétone parce qu'elle dénature moins les albumines que l'alcool.

Le précipité de globuline, qui retient du sulfate d'ammonium, est recueilli par décantation et mis en suspension dans l'acétone. On dialyse à nouveau, mais cette fois contre l'eau distillée, jusqu'à ce qu'on n'ait plus de précipitation par Cl^2Ba en milieu chlorhydrique. En réalité, il est très difficile d'éliminer complètement le sulfate d'ammonium et au bout de huit jours, il reste encore des traces de ce sel.

Le contenu du tube à dialyse est centrifugé. Le culot est desséché dans le vide phosphorique. On obtient finalement un corps coloré légèrement en brun par le leucæmol retenu, apparaissant au microscope comme amorphe.

Nous avons effectué l'opération précédente à partir d'amandes débarrassées par épluchage des téguments, opération longue et fastidieuse. Aussi avons-nous cherché à extraire la globuline des graines entières pulvérisées, en éliminant au préalable le mucilage, dont la présence en grande quantité dans le tégument gêne l'extraction.

500 gr. de graines pulvérisées, dégraissées, sont agitées au moyen d'un agitateur mécanique avec deux litres d'eau *distillée* torrénée, pendant une journée. Après avoir renouvelé la même opération trois fois, le macéré qui formait au début un liquide très épais, ne contient presque plus de mucilage. On épuise alors les graines par trois litres de solution à 10 % de ClNa et l'on continue comme dans la préparation précédente : filtration du liquide, précipitation par $\text{SO}^4 (\text{NH}^4)^2$, qui ne précipite pas le mucilage,

lavage du précipité avec une solution saturée de $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ dialyse contre l'eau ordinaire, puis contre l'eau distillée, finalement dessiccation dans le vide.

Rendement : 500 gr. de poudre donnent 7 gr. 10 de « globuline » amorphe, soit un rendement de 1 gr. 42 %.

Caractères de la « globuline ». — Les deux échantillons de globuline extraits de la semence de *Leucæna glauca* sont amorphes et fortement colorés, car il est impossible d'éliminer le leucæmol par dialyse. Insolubles dans l'eau distillée, ils ne se dissolvent que partiellement dans une solution de ClNa à 5 ou 10 % ; les différentes manipulations ont, semble-t-il dénaturé la globuline qui devrait se dissoudre complètement dans le ClNa à 5 %. La solution obtenue donne avec une goutte de Cl^3Fe dilué une légère coloration violette, indice de la présence de leucæmol.

Avec la soude diluée à 1 %, on obtient une dissolution complète, la solution précipite si l'on acidifie par ClH dilué.

Les solutions coagulent par la chaleur.

Teneur en azote. — La teneur de la globuline en azote, déterminée par un dosage selon KJELDAHL, est trouvée égale à 15 gr. 27 %. Nous avons cherché, d'autre part, la quantité d'azote correspondant aux traces de $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ retenu par la globuline, en faisant un dosage directement sans destruction organique : elle est de 0 gr. 12 %.

Le taux d'azote est donc pour 100 gr. de globuline, de 15 gr. 15 %.

Pour le deuxième échantillon, il est de 15 gr. 45 %.

Teneur en soufre. — Pour déterminer la teneur en soufre de notre globuline, nous nous sommes inspiré du travail de M. CHATRON, sur le dosage de l'ion SO_4 (2).

Le soufre est transformé en sulfate par minéralisation nitro-perchlorique et l'on fait un dosage du sulfate par

(2) Maxime CHATRON. — Contribution à l'étude de l'ion SO_4 . Application au dosage du soufre sanguin. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1930.

une méthode volumétrique à la benzidine. Voici d'ailleurs le détail de l'expérience que nous avons réalisée :

1) *Destruction organique.* — A 1 gr. de globuline, nous avons ajouté 6 Cm³ de NO³H fumant (d = 1,49) et 2 Cm³ d'acide perchlorique.

Après avoir laissé en contact 2 ou 3 minutes avant de chauffer, nous avons porté à l'ébullition jusqu'à dessiccation presque complète. Après refroidissement, nous avons ajouté 1 Cm³ de soude N et 2 à 3 Cm³ d'eau distillée, puis transvasé dans une fiole jaugée de 10 Cm³ et complété avec les eaux de lavage.

2) *Dosage du sulfate.* — On mesure dans un vase à précipiter de forme haute, 5 Cm³ de la solution ainsi obtenue, ajoute deux gouttes de bleu de bromophénol, puis de ClH dilué jusqu'à virage au jaune (pH = 2,8 à 3).

On verse ensuite dans le liquide ajusté au pH voulu 8 Cm³ d'acétone pure et 2 Cm³ de réactif benzidinique de FISKE. Après repos de 10 minutes, on filtre sur verre poreux d'Iéna 10 G. 4 sous pression réduite. On lave le bêcher avec 2 Cm³ d'acétone à 95 % en volume en la faisant couler le long des parois et on jette sur le filtre avant que la dernière goutte de liquide ait passé. On fait ce lavage à quatre reprises ; finalement, on lave à l'alcool et à l'éther. On supprime l'action du vide dès que le dernier liquide de lavage s'est écoulé. On porte le filtre 10 G. 4 dans un bêcher et verse dans celui-ci 40 à 50 Cm³ d'eau distillée bouillante, amenée par addition de soude à légère teinte rose en présence de phtaléine. Le précipité se désagrège par hydrolyse du sulfate de benzidine. Quand il a complètement disparu, on titre, tout en maintenant l'ébullition, l'acide sul-

(3) *Réactif de Fiske :*

Benzidine : 4 gr.

HCl N : 50 cc.

Eau distillée : 250 cc.

On pulvérise finement la benzidine, met en suspension dans un ballon jaugé de 250 cc. avec 150 cc. environ d'eau distillée. On ajoute par petites quantités et en agitant 50 cc. d'HCl N. S'il reste quelques paillettes les écraser avec un agitateur à bout caoutchouté. On complète à 250 cc. Conserver en flacons jaunes, à l'abri de la lumière.

furique libéré par la soude N/50 à l'aide d'une burette de 5^{cc} graduée en 1/100^e de Cm³ :

1^{cc} OH Na N/50 correspond à 0 mgr. 32 de soufre.

Nous trouvons que 100 gr. de globuline renferment 41 centigrammes de soufre, mais il faut déduire de cette quantité celle de soufre provenant du sulfate d'ammonium non éliminé complètement par la dialyse.

Ayant fait un dosage de l'azote propre à ce sel, nous en déduisons facilement par le calcul la quantité correspondante de soufre.

100 gr. de globuline renferment, sous forme de $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)^2 = 28$ cgr. 5 de soufre.

La teneur en soufre propre à la globuline est donc : $41 - 28,5 = 12$ cgr. 5 %.

Pour le 2^e échantillon, nous avons trouvé 13 cgr. 2 %.

Teneur % en :

	Azote	Soufre
1 ^{er} échantillon	15 gr. 15	0 gr. 125
2 ^e échantillon	15 gr. 45	0 gr. 132

Le produit que nous avons extrait n'est pas suffisamment pur pour que l'on puisse le comparer sérieusement avec les principes analogues retirés d'autres graines.

Les circonstances ne nous ayant pas permis de poursuivre et compléter ces expériences, elles ne peuvent constituer qu'une indication. Nous concluons seulement que :

L'amande de la graine de *Leucæna glauca* cède :

à l'eau distillée : 2,25 % de son poids sec de matières protéiques,

à la solution de ClNa à 5 % : 12,31 % de son poids sec de matières protéiques,

à la solution de OHNa à 0,5 % : 20,68 % de son poids sec de matières protéiques.

On se trouverait en présence d'un mélange d'albumines, de globulines et de glutélines.

Nous avons extrait une petite quantité de globuline.

Par sa teneur en protides, la graine de *Leucæna* se rapproche des graines de Légumineuses couramment utilisées dans l'alimentation : Pois, fève, haricot.

CHAPITRE V

ETUDE DES SUBSTANCES PHOSPHOREES

Dans les tissus végétaux, comme dans les tissus animaux, le phosphore se rencontre sous la forme minérale et sous la forme organique.

Le phosphore minéral est celui des phosphates minéraux.

Le phosphore organique est représenté par : le P lipidique, le P nucléoprotéidique, le P glucidique, auquel se rattache le P phytinique.

Nous n'exposerons pas, dans ce travail, tout ce qui se rapporte à ces substances, mais à peu près exclusivement ce qui se rapporte à leur dosage. Nous renvoyons pour plus de détails à l'excellent travail de M. COLIN (1) qui nous a servi de guide pour cette étude.

Nous avons déterminé :

- le P lipidique,
- le P nucléo-protéidique,
- le P phytinique,
- le P minéral,
- le P total.

1° Détermination du P lipidique

Le principe de la méthode, application aux tissus végétaux de la technique de JAVILLIER pour les tissus animaux,

(1) Yves COLIN. — Recherches techniques sur la séparation et le dosage des principes immédiats phosphorés des graines. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1935.

est le suivant : extraire, par l'emploi successif de l'alcool et de l'éther, les lipides de la graine. Reprendre par l'éther et le benzène anhydres le résidu parfaitement desséché de l'extraction précédente. Doser, dans le résidu d'évaporation des dernières liqueurs, P par la méthode de COPAUX.

Extraction.

10 grammes de poudre fine de graines de *Leucæna glauca* sont épuisés pendant 12 heures à l'appareil de KUMAGAWA par l'alcool à 96°. La liqueur alcoolique est mise de côté et on achève l'épuisement de la poudre par une lixiviation de deux heures à l'éther anhydre. On distille au bain-marie sous pression réduite les liqueurs alcoolique et éthérée réunies. Vers la fin de la distillation, on introduit 10 Cm³ d'alcool à 96°, à l'aide du robinet disposé à cet effet. On maintient le vide et on distille presque à sec. On renouvelle une deuxième fois cette opération avec de l'alcool à 96°, une troisième fois avec de l'alcool absolu. Quand la distillation est à peu près terminée, on plonge brusquement le ballon dans l'eau bouillante du bain-marie et on agite. En quelques minutes, la distillation est achevée et abandonne un résidu bien sec.

On reprend ce résidu par 40 Cm³ d'éther anhydre, en opérant à l'ébullition à reflux, pendant un quart d'heure. La liqueur éthérée est filtrée, après refroidissement, dans une fiole conique. On reprend de la même façon avec du benzène anhydre et la liqueur benzénique ainsi que les liqueurs de lavage du ballon, sont réunies à la solution éthérée obtenue précédemment. (On sait qu'il est important de réaliser ces reprises d'un extrait lui-même parfaitement sec, par des solvants anhydres, sous peine de redissoudre, à la faveur d'une humidité même légère, des composés phosphorés non lipidiques).

Les liqueurs éthéro-benzéniques sont enfin distillées,

l'extrait obtenu maintenu à 100° pendant une heure, et l'on procède à la minéralisation.

Celle-ci a été réalisée selon la technique nitro-magnésienne.

Méthode de minéralisation nitro-magnésienne (2).

L'extrait lipidique est chauffé, dans un matras de KJELDAHL, relié à un aspirateur de GUILLAUMIN, avec 10 Cm³ d'acide nitrique et 3 gr. de nitrate de magnésium, jusqu'à cessation de dégagement de vapeurs nitreuses. On reprend avec de l'acide nitrique dilué et on laisse en contact pendant une heure pour hydrolyser les pyrophosphates qui auraient pu se former. On transvase dans une fiole conique et on neutralise par l'ammoniaque en présence de phtaléine du phénol. On laisse reposer pendant 24 heures le dépôt de phosphate ammoniaco-magnésien qui s'est formé. On le recueille sur un filtre et, après lavage à l'eau ammoniacale à un pour cent (30 Cm³), on le redissout dans un mélange de 5 Cm³ d'acide nitrique et de 15 Cm³ d'eau distillée. C'est sur cette solution que l'on procède au dosage final suivant la méthode de COPAUX.

Dosage.

On sait que la méthode de COPAUX est fondée sur la formation, en présence d'acide nitrique, d'éther et de molybdate alcalin, d'un complexe aquéo-éthéro-phospho-duodécimolybdique; ce complexe, huileux, est séparé par centrifugation dans une ampoule spécialement graduée : le volume occupé par le complexe permet de déterminer la quantité d'acide phosphorique présente dans la prise d'essai.

Nous avons utilisé : le réactif molybdique obtenu en

(2) Mme HINGLAIS. — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes des Vertébrés. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1928.

Zaharie SUTU. — Recherches sur deux méthodes de dosage de l'acide phosphorique. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1926.

dissolvant à chaud 100 gr. d'anhydride molybdique dans l'eau, contenant 50 gr. de carbonate de sodium et en complétant au volume de 1000 Cm³, des ampoules de COPAUX graduées en vingtièmes de Cm³, la douille graduée ayant une capacité de 1 Cm³ 5.

Dans l'ampoule, on introduit la solution nitrique provenant de la minéralisation de l'extrait lipidique, et correspondant à 10 gr. de graines, 8 Cm³ d'éther, on agite énergiquement pour bien saturer la solution aqueuse d'éther ; nous avons ajouté 10 Cm³ de réactif molybdique, agité énergiquement, et, enfin centrifugé. La centrifugation a été poursuivie jusqu'à ce que deux lectures successives donnent le même volume de complexe.

Nous avons trouvé 12,4 divisions, correspondant à 12,4 milligrammes de P²O⁵, pour 10 grammes de graines.

La teneur des graines de *Leucæna* en P lipidique est donc de 0,124 gr. pour 100, exprimée en P²O⁵.

2° Détermination du P. nucléinique.

Extraction.

Nous avons employé pour cette détermination les méthodes qui, après une sévère critique, ont été employées par COLIN ; extraction des nucléo-protéides par une quantité d'ClH déterminée par une série d'expériences, minéralisation et dosage d'après la méthode de COPAUX, en suivant la technique décrite précédemment pour le dosage du P lipidique.

On a opéré sur 5 gr. de graines délipidées, auxquels on a joint la partie correspondante de l'extrait lipidique insoluble dans l'éther et le benzène. On délaie dans 100 Cm³ de solution de ClNa à 12,5 pour 100, additionnée, peu de temps avant l'emploi, de 0,5 gr. triacétide (celui-ci a pour rôle d'assurer une bonne imbibition de la poudre par la solution chlorurée). On chauffe avec précaution au bain d'huile, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux,

pendant une demi-heure en agitant. (L'opération est gênée par la présence de mucilage, qui provoque la formation d'une mousse abondante).

Après refroidissement, la solution est séparée de la partie insoluble par centrifugation. Elle renferme : outre le P nucléo-protéique, le P phytinique et le P minéral soluble. Il reste cependant dans le résidu insoluble 5 à 10 % du P total, mais COLIN a montré que tout le P nucléo-protéidique est dissous.

Précipitation des nucléo-protéides.

On sépare les nucléo-protéides de la solution en les précipitant par ClH. Mais, COLIN a montré que leur précipitation quantitative est obtenue pour une quantité d'acide qui varie avec chaque plante (pH optimum = 2 pour le germe du blé, pH optimum = 1 pour les graines de lentille). Il faut donc réaliser la précipitation, dans une série d'essais, avec des quantités variables d'acide et doser le P dans chaque cas, on retient les chiffres les plus élevés.

Minéralisation et dosage.

Ces opérations ont été réalisées comme pour le dosage du P lipidique.

Le tableau suivant résume les résultats que nous avons obtenus :

Volume de la solution chlorurée	Volume d'ClH normal	ClH en milligr.	Quantité de P trouvés (P^2O^5 en milligr.)	Quantité de P^2O^5 p ^r 100 gr. de graines en mill.
45 cm ³ (3 gr. 30 de poudre)...	0 cm ³ 45	16	0	0
45 cm ³ d ^o ...	0 cm ³ 73	27	traces	traces
75 cm ³ (3 gr. 75 de poudre)...	2 cm ³ 89	106	3,5	95
75 cm ³ d ^o ...	7 cm ³ 1	260	3,75	100
75 cm ³ d ^o ...	8 cm ³ 65	317	3,75	100
75 cm ³ d ^o ...	11 cm ³ 54	423	2,6	70

Il ressort de l'examen de ce tableau que la précipitation maximum est obtenue pour une quantité de ClH comprise entre 346 milligrammes et 422 milligrammes pour 100 Cm^3 de solution chlorurée ($\text{pH} = 1$). (En ramenant par le calcul à 100 Cm^3 de solution, les résultats trouvés pour 75 Cm^3).

La teneur des graines de *Leucæna* en P nucléo-protéique est de 100 milligrammes pour 100 grammes (exprimée en P^{2O_5}).

3° Dosage du P de la phytine.

La phytine passe en solution dans la liqueur chlorurée sodique en même temps que les nucléo-protéides. Cependant, nous avons vu que, d'après COLIN, la dissolution de la phytine n'est pas complète. Mieux vaut l'extraire par épuisement à l'aide d'une solution d'acide trichloracétique à 10 %, qui enlève à la poudre délipidée tous les composés phosphorés, à l'exclusion des nucléoprotéides. Nous avons effectué le dosage de la phytine suivant la technique de COLIN.

Le principe est le suivant : on précipite la phytine par le chlorure ferrique, employé en excès ; on sépare le précipité, on le mineralise et on dose P par la méthode de COPAUX.

1 gr. de poudre délipidée de graines de *Leucæna* est mis en contact pendant une heure avec 20 Cm^3 de solution d'acide trichloracétique à 10 %. On agite fréquemment et on sépare la solution par centrifugation. Le résidu insoluble est traité de la même manière, à deux reprises, avec 10 Cm^3 de la même solution acide. On réunit les liqueurs et on amène au volume de 50 Cm^3 . La solution renferme le P minéral et la phytine.

On neutralise par l' NH^3 en présence de rouge de méthyle, puis on ramène au $\text{pH} = 5$, par addition de ClH . N/1. On

ajoute alors un excès de solution officinale de Cl^3Fe à $2,5 \text{ Cm}^3$. La présence de leucæmol donnant une coloration intense avec le chlorure ferrique, on vérifie qu'il y a excès de sel ferrique à la touche avec le sulfocyanate d'ammonium.

Après repos de 24 heures, on recueille le précipité par centrifugation ; on le lave avec 5 Cm^3 de $\text{ClH N}/40$. On minéralise et on dose P comme précédemment.

100 gr. de graines de *Leucæna* délipidées renferment $0,17 \text{ gr.}$ de P^2O_5 phytinique (soit sensiblement $0,16$ pour 100 gr. de graines non délipidées).

4° Détermination du P minéral : ortho et pyrophosphates.

Le dosage du P minéral a été effectué sur le liquide obtenu en épuisant les graines par l'acide trichloracétique à 10 pour cent. Pour éviter, au cours de cet épuisement, l'hydrolyse des pyrophosphates, l'opération a été effectuée à 0° . 100 Cm^3 de la solution correspondaient à 4 gr. de graines.

Pour doser les orthophosphates, on précipite le P sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien qu'on redissout dans l'acide nitrique dilué et qu'on dose alors par la méthode de COPAUX. La phytine, qui précipite en même temps que les orthophosphates, ne réagit pas sur le réactif de COPAUX.

Opérant sur la solution correspondant à 12 gr. , puis sur la solution correspondant à 24 gr. de graines, nous avons trouvé respectivement 6 milligrammes et $11,8 \text{ milligr.}$ de P^2O_5 , provenant des orthophosphates.

La recherche des pyrophosphates a été faite suivant la technique de LOHMANN ⁽³⁾. La liqueur d'épuisement obtenue comme nous l'avons exposé plus haut et dont nous

(3) K. LOHMANN. — Ueber das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat in Zellen. *Biochem. Zeitschr.*, 1928, 203, pp. 164-171 et 172-207.

connaissions, par le dosage précédent, la teneur en orthophosphates, est hydrolysée par ClH N à la température de l'ébullition maintenue pendant 7, puis 15, puis 60 minutes et dans chacune des liqueurs d'hydrolyse, on dose P^2O^5 qui représente P^2O^5 des orthophosphates + P^2O^5 des pyrophosphates amenés à l'état d'orthophosphates.

LOHMANN considère que l'hydrolyse des pyrophosphates est réalisée après sept minutes. Au-delà, on hydrolyserait certains composés glucidiques, qu'on peut d'ailleurs différencier par leur vitesse d'hydrolyse (4).

Nous avons opéré sur des quantités de liquide d'épuisement correspondant à 12 et à 24 gr. de graines. Nos résultats sont consignés dans le tableau suivant :

	Prise d'essai correspondant à 12 gr. de graines	Prise d'essai correspondant à 24 gr. de graines
<i>Dosage après hydrolyse de :</i>		
7 minutes	7 mmgr. P^2O^5	13 mmgr. 6 P^2O^5
15 minutes	7 mmgr. 2	13 mmgr. 9
60 minutes	7 mmgr. 2	14 mmgr.

L'hydrolyse de 7 minutes a suffi pour augmenter le taux de P^2O^5 , de 1 milligramme pour 12 gr., de 1,8 milligr. pour 24 gr. de graines. La constance de la différence observée permet d'évaluer à 7,5 milligrammes la quantité de pyrophosphates (exprimée en P^2O^5) existant dans 100 gr. de graines. Ces résultats sont, en réalité, à peine supérieurs aux erreurs d'expérience de la méthode employée.

La teneur des graines de *Leucæna glauca* en P minéral, exprimée en P^2O^5 , serait donc, pour 100 gr. de graines, de 50 milligrammes pour le P^2O^5 des orthophosphates, de 7,5 milligrammes pour celui des pyrophosphates.

(4) D. NACHMANSOHN. — Action des substances sympathomimétiques et parasymphomimétiques sur les processus musculaires. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, 19, pp. 453-459.

5° Phosphore total.

Le dosage a été effectué sur le produit de minéralisation nitromagnésienne de 1 gr. de graines, par la méthode de COPAUX.

100 gr. de graines renferment 0,57 gr. de P^2O^5 .

Conclusion.

Le tableau suivant donne l'ensemble des résultats :

100 gr. de graines renferment :

P^2O^5 total		570 mmgr.	
P^2O^5 lipidique		124 mmgr.	soit 21,7 % du P^2O^5 total
P^2O^5 nucléoprotéi-			
dique		100 mmgr.	soit 17,5 % du P^2O^5 total
P^2O^5 phytinique	..	170 mmgr.	soit 29,8 % du P^2O^5 total
P^2O^5 minéral :			
des orthophosphates		50 mmgr.	soit 8,8 % du P^2O^5 total
des pyrophosphates		7 mmgr. 5	soit 1,3 % du P^2O^5 total
P^2O^5 restant, indéterminé		119 milligrammes,	soit 20,8 % du P^2O^5 total.

CHAPITRE VI

ETUDE DES ELEMENTS MINERAUX

Par incinération au four à moufle, les semences de *Leucæna glauca* (qui renferment 7,2 % d'eau) laissent un résidu minéral assez élevé. Nous en avons déterminé la proportion en faisant la moyenne de trois dosages successifs portant sur de la poudre de semences desséchée d'abord à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant :

	I	II	III
Prise d'essai ..	1 gr. 92	2 gr.	2 gr. 47
Cendres	0 gr. 0833	0 gr. 0898	0 gr. 1121
Soit %	4,34	4,49	4,54

Etablissant une moyenne, on trouve une teneur de 4 gr. 45 % de cendres comprenant :

- 1 gr. 4 % de cendres solubles dans l'eau
- 2 gr. 65 % de cendres solubles dans les acides
- 0 gr. 40 % de cendres insolubles

Pour faire une étude qualitative de ces cendres, nous avons calciné 3 kilogr. de graines (débarrassées au préalable des poussières et impuretés). Cette calcination a été conduite d'abord à une température inférieure au rouge sombre, de manière à obtenir des cendres noires, ceci pour éviter la volatilisation des chlorures. On laisse refroidir, puis on traite le résidu par un peu d'eau. Les sels alcalins qui englobaient le charbon se dissolvent ; on filtre la solu-

tion aqueuse ainsi obtenue. On épuise par l'eau à deux nouvelles reprises et on réunit toutes les solutions aqueuses.

Le mélange des diverses solutions aqueuses constitue un liquide fortement alcalin, légèrement coloré en jaune. On complète, avec de l'eau distillée, son volume à un litre.

Les cendres débarrassées des sels alcalins solubles sont chauffées au rouge. Le charbon disparaît rapidement. On reprend une dernière fois par l'eau distillée, puis les cendres sont traitées à trois reprises par une liqueur acide renfermant 20 % de ClH + 2 % de NO^3H . On réunit toutes les liqueurs acides.

Le mélange des solutions acides renferme un peu de silice. Pour séparer celle-ci, on évapore à sec au bain-marie. Le résidu est à deux reprises additionné de 20 Cm^3 de ClH concentré et chaque fois évaporé à sec. Finalement, on reprend par de l'eau chlorhydrique : on obtient d'une part, une liqueur acide que l'on amène au volume d'un litre, d'autre part, un petit résidu de silice, qui est ajouté aux cendres insolubles dans les acides.

La portion de cendres demeurée insoluble dans les acides est constituée par de la silice impure.

Nous avons donc ainsi, à partir de 3 kg. de graines :

Un litre de solution aqueuse alcaline renfermant les cendres solubles dans l'eau,

Un litre de liqueur acide renfermant les cendres insolubles dans l'eau, mais solubles dans le ClH ,

Un résidu insoluble dans les acides, constitué par de la silice impure.

I. — Analyse qualitative.

La composition qualitative des cendres déterminée selon les méthodes classiques, est la suivante :

<i>Cendres solubles dans l'eau</i>	<i>Cendres solubles dans l'HCl</i>	<i>Cendres insolubles</i>
Potassium	Cuivre	Silice
	Aluminium	
Sodium	Fer	
	Calcium	
	Magnésium	
Acide chlorhydrique	Acide phosphorique	
Acide sulfurique	Acide carbonique	
Acide silicique		
Acide carbonique		

Le cuivre et l'aluminium s'y trouvent en très petite quantité. Les autres métaux tels que Zn, Ni, Co n'ont pu être décelés.

II. — Analyse quantitative.

A. — Solution aqueuse.

1° ALCALINITÉ DE LA SOLUTION AQUEUSE. — Elle est due aux carbonates alcalins. On la détermine avec une solution N/10 de SO_4H_2 , en présence d'hélianthine comme indicateur. Il faut 12 Cm^3 8 pour neutraliser 10 Cm^3 de solution.

2° DOSAGE DES CHLORURES. — On l'effectue par la technique de CHARPENTIER-VOLHARD sur 5 Cm^3 de la solution :

1 litre de solution correspondant à 3 kilos de semences contient 4 gr. 176 de ClNa ou 2 gr. 55 de Cl . Les semences renferment donc :

$$\frac{4 \text{ gr. } 176}{30} = 0 \text{ gr. } 139 \% \text{ de chlorure (en ClNa)}$$

$$\frac{2,55}{30} = 0 \text{ gr. } 085 \text{ de Cl}$$

3° DOSAGE DES SULFATES. — On les dose pondéralement à l'état de SO_4Ba sur 50 Cm^3 de solution. On trouve 0 gr. 833 de SO_4Ba , ce qui correspond, pour 3 kilos de graines, à 7 gr. de SO_4H^2 , 2 gr. 28 de S.

100 gr. de semences contiennent donc :

0 gr. 233 de sulfates, exprimés en SO_4H^2

soit 0 gr. 073 de S des sulfates.

4° DOSAGE DES MÉTAUX ALCALINS. — 50 Cm^3 de solution sont traités par 1 Cm^3 de brome en présence de 5 Cm^3 de ClH , de manière à transformer en sulfates les sulfures éventuellement formés lors de la calcination. La solution est alors alcalinisée par NH^3 , puis acidifiée par ClH . On élimine les sulfates et les phosphates par addition d'une solution acétique de plomb. On filtre et lave le précipité. Le filtrat et les eaux de lavage sont additionnés de ClH jusqu'à virage au vert du violet de méthyle et traités par un courant de SH^2 jusqu'à précipitation complète du plomb. On filtre et lave le précipité. On élimine les dernières traces de sulfates par le Cl^2Ba , dont on élimine ensuite l'excès par le $\text{CO}^3(\text{NH}^4)^2$. On obtient finalement une solution limpide que l'on concentre et évapore à sec. Le résidu est calciné à température modérée pour détruire les sels ammoniacaux, puis repris par de l'eau chlorhydrique. On filtre pour séparer la petite quantité de silice existant dans la solution aqueuse sous forme de silicate (cette quantité déterminée après calcination est de 0 gr. 018, soit 0 gr. 36 pour un litre de solution aqueuse).

a) *Dosage du potassium.* — Le filtrat renfermant les chlorures de K et de Na est évaporé à sec. On dissout le résidu dans 20 Cm^3 d'eau chaude, on ajoute 30 Cm^3 de solution d'acide perchlorique. On évapore et traite par 20 Cm^3 d'alcool méthylique, contenant 0 gr. 2 d'acide perchlorique. On recueille et lave le précipité de perchlorate de potassium avec de l'alcool méthylique. On le sèche à 100° et on pèse.

On trouve pour une prise d'essai de 50 Cm³ :

1 gr. 93 de perchlorate de K, ce qui correspond à :

$$1,93 \times 0,282 = 0 \text{ gr. } 544 \text{ de K,}$$

soit pour un litre de solution 10 gr. 885,

et pour 100 gr. de semences 0 gr. 3628 %.

b) *Dosage du sodium.* — Au liquide séparé du perchlorate de K, additionné des eaux de lavage, on ajoute 1 Cm³ de SO⁴H² concentré, on évapore, on calcine. Pour transformer le sulfate acide de Na en sulfate neutre, on ajoute à plusieurs reprises du carbonate d'ammonium. On calcine une dernière fois et on pèse le sulfate de sodium.

On trouve : 0 gr. 173 de SO⁴Na²,

ce qui correspond à 0 gr. 173 $\times$ 0,3238 = 0 gr. 056 de Na pour 50 Cm³,

et pour 100 gr. de semences : 0 gr. 037.

B. — Solution acide.

DOSAGE DES PHOSPHATES. — Il a été effectué directement sur le produit de minéralisation de 1 gr. de graines, au cours de l'étude des composés phosphorés (voir Chap. V) et nous a donné : 0 gr. 570 pour 100 gr. de graines.

DOSAGE DES MÉTAUX. — Le cuivre ne se trouvant dans la liqueur acide qu'en très petite quantité n'a pas été dosé. Pour le dosage du fer et des métaux alcalino-terreux il est nécessaire d'éliminer les phosphates, selon la méthode déjà appliquée au dosage des métaux alcalins de la liqueur aqueuse.

20 Cm³ de liqueur acide sont traités dans une fiole jaugée de 100 Cm³ par Q. S. de solution acétique d'acétate de plomb. On complète à 100 Cm³, filtre et prélève 75 Cm³ (soit 15 Cm³ de liqueur primitive) dans une fiole jaugée de 250 Cm³, où l'on fait passer SH² après acidification par ClH. On complète finalement à 250 Cm³, filtre et prélève 200 Cm³ qui correspondent à 12 Cm³ de liqueur primitive.

La liqueur limpide obtenue est concentrée, elle est prête alors pour les dosages du fer, du calcium et du magnésium.

a) *Dosage du fer.* — La liqueur privée des phosphates est traitée par ClNH_4 et NH_3 en excès à l'ébullition. Les hydroxydes de fer et d'aluminium précipitent. On recueille le précipité par filtration et on met de côté le filtrat, qui sera utilisé pour le dosage du Mg.

Le précipité est dissous dans un peu d'eau régale. La solution est évaporée à sec et le résidu traité à plusieurs reprises par SO_4H_2 , ce qui a pour effet de transformer le fer et l'aluminium en sulfates. Finalement, le résidu de sulfates est repris par un mélange de : 30 Cm^3 d'eau bouillie + 5 Cm^3 de SO_4H_2 + 1 Cm^3 de PO_4H_3 et additionné de poudre de zinc pur. Le sulfate ferrique est réduit à l'état de sulfate ferreux, que l'on titre par une solution de MnO_4K N/100. Un dosage témoin nous donne la quantité de MnO_4K utilisée par les matières réductrices contenues dans les réactifs.

On trouve 3 Cm^3 6 de MnO_4K N/100, pour une prise d'essai de 12 Cm^3 .

1 Cm^3 de MnO_4K N/100 correspond à 0 gr. 0005584 de fer.

1 litre de liqueur acide, soit 3 kilos de graines, renferme 167 mgr. 5 de fer; 100 gr. de semences contiennent donc 5 mgr. 58 de fer.

b) *Dosage du calcium.* — Le filtrat débarrassé du Fe et de l'Al est acidulé par l'acide acétique et additionné à l'ébullition d'une solution bouillante d'oxalate de NH_4 . On laisse le précipité d'oxalate de Ca se déposer pendant vingt-quatre heures. On le sépare par filtration (le filtrat servira au dosage du Mg). On dissout le précipité dans SO_4H_2 dilué et l'on fait un titrage volumétrique à l'aide d'une solution N/10 de MnO_4K . On trouve 55 Cm^3 de MnO_4K pour une prise d'essai de 12 Cm^3 . 3 kilos de graines renferment donc 9 gr. 30 de Ca, soit 0 gr. 31 pour 100 gr.

c) *Dosage du magnésium.* — On l'effectue sur le filtrat privé de Ca. Celui-ci est alcalinisé par NH_3 au $1/10^{\circ}$ et additionné de phosphate de soude à l'ébullition. On laisse reposer pendant douze heures. On recueille sur un filtre le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien qui, après lavage avec NH_3 à 2,5 % (jusqu'à ce que l'eau de lavage acidulée par NO^3H ne précipite plus par NO^3Ag), est séché à 100° et calciné. On pèse après refroidissement le pyrophosphate de Mg.

La prise d'essai de 12 Cm^3 donne 0 gr. 443 de pyrophosphate de Mg.

3 kilos de graines renferment $\frac{1.000 \times 0,0443 \times 0,2184}{12} =$
soit 0 gr. 268 pour 100 gr.

C. — Dosage de la silice.

Le résidu de silice impure, coloré en rouge brique, obtenu après le traitement des cendres par les acides, est repris par un mélange de ClH et de NO^3H pur. On évapore, puis on épuise par l'eau chlorhydrique à l'ébullition. La partie insoluble est séchée, puis calcinée au four à moufle. On obtient un résidu pulvérulent de silice, correspondant à 11 gr. 43 pour 3 kilos de graines.

Ce poids de silice doit être augmenté du poids de silice solubilisée existant dans la solution alcaline sous forme de silicate, soit de 0 gr. 36 :

3 kilos de graines renferment donc 11 gr. 79 de silice, soit 0 gr. 39 pour 100 grammes.

Pour résumer, voici rapportés dans le tableau suivant les résultats de l'analyse minérale quantitative pour 100 gr. de semences fraîches d'une part et 100 gr. de semences sèches d'autre part :

	% de semences fraîches	% de semences sèches
Eau	7 gr. 20	
Substances minérales		4 gr. 45 (1)
Cl	0 gr. 085	0 gr. 091 .
SO ₄ H ²	0 gr. 233	0 gr. 251
P (en P ₂ O ₅)	0 gr. 57	0 gr. 61
SiO ₂	0 gr. 39	0 gr. 420
Fe	0 gr. 0056	0 gr. 0061
Cu	traces	traces
Ca	0 gr. 31	0 gr. 33
Mg	0 gr. 268	0 gr. 288
K	0 gr. 3628	0 gr. 3909
Na	0 gr. 037	0 gr. 039

(1) Les analyses antérieures faites par divers auteurs donnent, pour la teneur en cendres : 5,01, — 3,87, — 3,99, — 4,20 (Chapitre IV, page 30).

CHAPITRE VII

ETUDE DES DIASTASES

Nous avons caractérisé dans les semences de *Leucæna glauca* la présence d'une peroxydase, de séminase, d'émulsine, d'uréase et de phosphatases. Ce sont ces dernières d'ailleurs que, sous la direction de M. J. COURTOIS, nous avons plus spécialement étudiées.

I. — Recherche de l'oxydase.

On délaie quelques décigrammes de poudre de *Leucæna* dans de l'eau distillée. Le liquide filtré est soumis aux essais suivants :

a) On lui ajoute de la teinture de résine de gaïac récemment préparée. La coloration ne change pas, même au bout de plusieurs heures. Mais si l'on ajoute au mélange quelques gouttes d'eau oxygénée, immédiatement l'on voit apparaître une coloration bleue intense.

b) En présence de la macération de poudre, l'eau gaïaculée saturée vire au rouge par addition d'eau oxygénée.

Des tubes témoins, préalablement portés à 100°, restent inactifs dans l'une et dans l'autre expérience. Ces deux essais indiquent la présence d'une peroxydase et l'absence d'oxydase vraie.

II. — Recherche de la séminase.

La séminase est définie par M. HÉRISSEY (1) comme « un ensemble de ferments solubles spéciaux capables de faire subir aux mannanes et aux galactanes contenues dans l'albumen corné de certaines graines des transformations identiques à celles que réalise l'hydrolyse par les acides minéraux étendus et bouillants, c'est-à-dire leur transformation en sucres assimilables ».

Sa présence a été démontrée par BOURQUELOT et HÉRISSEY dans les graines de nombreuses Légumineuses : Luzerne, Indigo, *Cytisus Laburnum*, *Sarothamnus scoparius*, *Robinia pseudacacia*, etc...

Pour la mettre en évidence dans les semences de *Leucaena glauca*, nous avons suivi la technique décrite par M. HÉRISSEY.

125 gr. de graines finement moulues sont mises à macérer à l'étuve à 35° dans un litre d'eau distillée additionnée de 15 gr. de fluorure de sodium. Le mélange, d'abord épais et visqueux, est devenu en dix jours graduellement très fluide, tandis qu'un mélange témoin identique porté à l'autoclave à 105° avant l'addition de FNa reste à l'état de pâte épaisse et mucilagineuse.

Le mélange liquéfié est retiré de l'étuve et après vingt-quatre heures exprimé et filtré, ce qui donne 900 Cm³ environ de liquide contenant des sucres réducteurs. Le dosage de ces derniers donne comme résultat 4 gr. 285 (en glucose). La totalité du liquide étant additionnée d'acétate de phénylhydrazine, nous avons obtenu à froid un précipité abondant ayant les caractères de la mannose-hydrazone (forme cristalline en sphéro-cristaux, point de fusion), qui, lavé à l'eau, l'alcool à 95° et l'éther, pèse

4 gr. 02, ce qui correspond à $\frac{4,67 \times 4,02}{7} = 2 \text{ gr. } 68$ de

(1) H. HÉRISSEY. — Sur la digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux. Thèse Doct. Sc., Paris, 1903.

mannose. Le liquide fermentaire, additionné d'alcool pour précipiter les hydrates de carbone non saccharifiés, filtré, évaporé, puis traité par NO^3H de densité convenable, fournit de l'acide mucique, caractéristique du galactose.

Cette expérience nous permet de conclure à la présence de séminase.

III. — Recherche de l'uréase.

Entrevu depuis longtemps dans la fermentation ammoniacale de l'urine, ce ferment a été défini en 1874 par MUSCULUS.

L'uréase, dont l'existence chez les végétaux supérieurs fut signalée en 1909 par TAKEUCHI, a été décelée par FOSSE en 1916 dans un certain nombre de plantes : le trèfle, le mélilot, le lupin, l'ortie, l'abricotier, etc..

En 1911, E. ARMSTRONG et E. HORTON préparent ce ferment à partir des graines de soja.

En 1918, Antonin NEMEC en montre la présence dans la paille et les différentes graines de céréales.

Etudiée par P. CARNOT, P. GÉRARD et Mlle S. MOISSONNIER au point de vue de son action sur l'organisme animal, elle fit l'objet d'un travail chez les Champignons supérieurs par P. COSTY (2).

Nous nous sommes inspiré des méthodes de ce dernier pour caractériser l'uréase dans les semences de *Leucæna* et en mesurer l'activité.

Mise en évidence de l'uréase.

Dans de petites fioles coniques de 60 Cm^3 environ, préalablement stérilisées, on introduit 25 Cm^3 de solution N/10

(2) P. COSTY. — Uréase et urée chez les champignons supérieurs. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1923.

d'urée (6 gr. 900) et 0 gr. 50 de poudre de graines de *Leucæna*. La fiole est fermée par un tampon de coton, laissant passer un papier de tournesol préalablement humecté d'eau distillée. Le tout est porté à l'étuve à $+37^{\circ}$ et l'on observe toutes les heures la marche de la réaction.

La présence du ferment est indiquée par le bleuissement plus ou moins rapide et plus ou moins intense du papier réactif, bleuissement dû à l'action de l'ammoniaque provenant du carbonate d'ammonium formé et en voie de dissociation.

Il faut vérifier dans la même opération, à l'aide d'un flacon témoin, que la solution d'urée employée ne bleuit pas spontanément le papier de tournesol.

La richesse en ferment est déterminée par la plus ou moins grande rapidité avec laquelle se produit le bleuissement.

On considère comme *très riche* l'espèce donnant une réaction positive en une heure.

On considère comme *riche* l'espèce donnant une réaction positive en deux heures.

On considère comme *peu* ou *très peu riche* l'espèce donnant une réaction positive en quatre heures.

Dans l'expérience faite avec la poudre de *Leucæna*, le bleuissement est apparu au bout d'une heure et demie. La graine de *Leucæna* est donc riche en uréase.

Mesure de l'activité.

0 gr. 50 de poudre sont mis en contact avec 50 Cm³ de solution N°10 d'urée dans des fioles coniques. On porte ces fioles à l'étuve à $+37^{\circ}$. On prélève dans chacune d'elles, à des intervalles de temps définis, 10 Cm³ de la solution

et on titre au moyen d'une solution N/10 de ClH en présence d'hélianthine comme indicateur, le carbonate d'ammonium formé sous l'influence du ferment. Le nombre de Cm^3 d'acide mesure l'activité en un temps déterminé.

Nous avons utilisé dans notre expérience :

0 Cm^3 4 de ClH N/10	au bout de 1 heure
0 Cm^3 8 — — —	de 2 heures
1 Cm^3 3 — — —	de 3 heures
2 Cm^3 6 — — —	de 6 heures

Comme il faut deux molécules de ClH pour saturer une molécule de $\text{CO}^3 (\text{NH}^4)^2$, si on utilise N Cm^3 de ClH N/10 pour saturer 10 Cm^3 de liqueur d'urée N/10 (à 6 gr. ‰) soumise à l'hydrolyse pendant un temps déterminé, ces N^{cs} correspondent à un poids d'urée égal à $\text{N}/2 \times 0,006$.

Les quantités d'urée hydrolysées ont donc été pour 1.000 Cm^3 de solution N/10 d'urée (à 6 gr. ‰) :

en 1 heure.	0 gr. 12
en 2 heures.	0 gr. 24
en 3 heures.	0 gr. 39
en 6 heures.	0 gr. 78

Indiquons, comme terme de comparaison, que le *Boletus edulis*, champignon très actif, hydrolyse en six heures 4 gr. 50 d'urée ‰, le *Clitocybe geotropa* 4 gr. 05 ‰, le *Boletus scaber* 1,14, le *Boletus aurantiacus* 0 gr. 90, le *Lactarius piperatus* 0 gr. 63, le *Cortinarius brunneus* 0 gr. 12.

IV. — Recherche de l'émulsine et mesure de son activité

Pour caractériser l'émulsine ou, plus précisément, la β glucosidase, nous avons préparé une poudre fermentaire de la façon suivante (technique de BOURQUELOT et HÉRISSEY, modifiée par CHEYMOL (1)).

La poudre de *Leucæna*, moulue très finement, est mise en contact avec l'alcool à 90°. On agite fréquemment et au bout de douze heures onessore sur un entonnoir de BÜCHNER. On introduit la poudre dans un percolateur et on lixivie avec 10 volumes d'alcool, puis avec l'éther. On fait sécher dans le vide sulfurique et on passe au tamis. Notre expérience a été faite avec une poudre fermentaire passée au tamis n° 80.

a) Recherche.

La poudre est introduite dans une petite fiole d'ERLENMEYER, dont le bouchon laisse passer un papier picrosodé, avec 25 cm³ d'eau distillée et 0 gr. 20 environ d'amygdaloside. Le tout est placé à l'étuve à + 37°. Au bout de quelques heures, nous avons pu constater que le papier réactif rougissait, témoignant du dédoublement du glucoside sous l'action de l'émulsine contenue dans la poudre fermentaire.

b) Mesure de l'activité.

Nous nous sommes proposé de voir approximativement l'activité de cette émulsine par la méthode d'HELFERICH, qui base la mesure de l'activité de ce ferment sur la « valeur temps » (*Zeitwert*).

« Cette valeur temps est le nombre de minutes que met une quantité déterminée d'émulsine pour dédoubler 50 %

(1) J. CHEYMOL. — Sur la composition chimique de la racine de *Geum urbanum* L. *Thèse Doct. Univ. Paris (Pharm.)*, 1927.

de salicoside mis en œuvre à 30° et au pH optimum (4,2) » (2).

On part de l'équation suivante :

$$K = \frac{1 \log A - E}{A_1 - E}$$

déduite du fait que l'hydrolyse du salicoside par la salicosidase est une réaction monomoléculaire.

K = constante d'hydrolyse ;

A = déviation initiale de la solution de salicoside utilisée ;

A₁ = déviation de cette solution après action de la poudre fermentaire pendant 1 minute ;

E = déviation finale de la solution de salicoside après hydrolyse totale.

On tire de cette équation $\frac{1}{1}$ (Zeitwert) pour 50 % d'hydrolyse :

$$\frac{1}{1} = \frac{\log^2}{K}$$

On utilise la solution suivante :

Salicoside	2 gr. 50
Acétate de Na décinormal (8 gr. 2 ‰) ..	10 cm ³
Acide acétique N/10 (6 gr. ‰)	10 cm ³
Eau distillée	Q. S. 100 cm ³

Nous déterminons :

- 1° la déviation polarimétrique A de cette solution = — 3°,10
- 2° la déviation E que donne cette solution après action d'émulsine pendant 24 heures à l'étuve à + 37° = + 0°,94

(2) R. PARIS. — Action de diverses substances organiques volatiles sur quelques glucosides *in vivo* et *in vitro*. Thèse Doct. Sciences, Paris, 1935, p. 40.

Nous préparons d'autre part un liquide fermentaire en faisant macérer dans de l'eau toluénée la poudre fermentaire dans de telles proportions que 10 cm³ de liquide correspondent à 0 gr. 10 de poudre (1 %). Cette liqueur ne présente pas de déviation propre.

On ajoute 5 cm³ de ce liquide à 20 cm³ de solution de salicoside (dont le titre final est ainsi abaissé à 2 %). On met deux heures à l'étuve à +30°. On arrête l'hydrolyse en ajoutant 1 gr. de carbonate de potassium. On filtre. On examine la déviation polarimétrique après défécation au plomb, le liquide étant fortement coloré.

La liqueur diluée donne une déviation de $-1^{\circ}.165$.

La liqueur non défécquée donnerait une déviation de $-2^{\circ}.33$.

L'émulsine WILLSTAETTER donne un « Zeitwert » = 22 et l'émulsine HÉRISSEY = 171 pour un liquide fermentaire dix fois moins concentré.

IV. — Etude des phosphatases.

On désigne de ce nom les diastases qui libèrent de l'acide orthophosphorique à partir des dérivés phosphorés organiques et de certains dérivés minéraux.

On les classe en plusieurs groupes :

les phosphomonoestérases, qui hydrolysent les monoesters de l'acide orthophosphorique, en particulier les glycérophosphates. FOLLEY et KAY en distinguent plusieurs types, d'après leur pH optimum;

les phosphodiastérases, qui n'hydrolyseraient que l'une des deux liaisons ester des diesters orthophosphoriques ;

les pyrophosphatases, qui hydrolysent les pyrophosphates ou les esters pyrophosphoriques;

(3) J. COURTOIS. — Recherches sur les phosphatases végétales. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1938 (d'après S. J. FOLLEY et H. D. KAY : *Ergeb. Enzymforschung*, 1936, 5, 159).

les phytases, libérant l'acide phosphorique et l'inositol de la phytine;

les lécithidases de FOLLEY et KAY, la métaphosphatase de KITASATO, la triphosphatase de NEUBERG et FISCHER, la phosphoamidase, l'amylophosphatase.

Les glycérophosphatases des graines ont été étudiées par de nombreux auteurs. NÉMEC ⁽⁴⁾ signale, le premier, que l'hydrolyse passe par un maximum pour un pH de 5-6. Il constata que, pour les graines oléagineuses, l'activité est plus grande, à pH égal, que chez les graines albumineuses, et pour celles-ci, plus grande que chez les graines amy-lacées.

J. COURTOIS ⁽⁵⁾, faisant une étude systématique des gly-céro-phosphatases chez diverses graines, confirma et pré-cisa ces résultats. Toutes ont le même pH optimum autour de 5,7. Au-dessous de pH 3,3 et au-dessus de pH = 9, elles sont inactives. Certaines se comportent de façons différentes vis-à-vis des α et β -glycérophosphates : les unes hydrolysent le β -glycérophosphate plus rapidement que l' α , les autres attaquent à la même vitesse les deux iso-mères.

Le même auteur, en collaboration avec P. FLEURY ⁽⁶⁾, poursuit ses recherches sur les pyrophosphatases et phy-tases végétales. Il a montré que ces deux diastases ont sensiblement le même pH optimum 5,6-5,8 que la glycéro-phosphatase. Il existe un parallélisme entre les activités phosphatasiques et pyrophosphatasiques, mais il ne semble pas y avoir de rapport entre ces deux activités et l'ac-tivité vis-à-vis de la phytine. Certaines graines, telles que le Haricot, sont très actives vis-à-vis des glycérophosphates

(4) A. NEMEC. — Zur Kenntnis der Glycerophosphatase der Pflanzensamen. *Bioch. Ztschr.*, 1923, 133, pp. 198-204.

(5) J. COURTOIS. — Hydrolyse comparée des acides α et β glycérophospho-riques par diverses phosphatases végétales. *IV^e Congrès de Chimie Biologique*, 1934, p. 389.

(6) P. FLEURY et J. COURTOIS. — Recherches sur les pyrophosphatases végé-tales I. Etude des cinétiques d'hydrolyse dans diverses conditions. *Enzymo-logia*, 1937, I, pp. 377-395.

et des pyrophosphates, et hydrolysent faiblement l'inositol-phosphate. Le *Triticum sativum*, actif vis-à-vis de l'inositol-phosphate, n'agit que moyennement sur les deux autres substrats.

Nous avons voulu déterminer l'activité de la graine de *Leucæna* sur le β -glycérophosphate de sodium, sur le pyrophosphate de sodium et sur la phytine, en essayant de préciser le pH optimum des diastases étudiées.

Nous nous sommes basé sur les travaux de P. FLEURY et J. COURTOIS (7).

Le principe de leur technique est le suivant : action d'une macération de graines sur un substrat adéquat, pendant un temps déterminé, à l'étuve à + 37°, élimination des protéines par la mixture magnésienne (formule TREADWELL = 55 gr. $\%_0$ Cl^2Mg , 105 gr. $\%_0$ ClNH^4) en milieu faiblement acide au bain-marie bouillant, séparation du phosphore minéral à l'état de phosphate ammoniac-magnésien, dosage de celui-ci par la méthode de COPAUX.

I. — Etude de l'action β -glycérophosphatase. de la graine de *Leucæna glauca*.

Nous avons préparé une liqueur extractive en faisant macérer pendant dix jours une partie de poudre de graines dans dix parties d'eau distillée *toluénée*. La liqueur est ensuite séparée par centrifugation et filtration.

M

Le substrat est une solution $\frac{M}{8}$ de β glycérophosphate de

sodium, purifié par deux cristallisations successives pour le débarrasser des traces de glycérol ou d' α glycérophosphate qu'il pourrait contenir. La solution est conservée sous toluène.

(7) P. FLEURY et J. COURTOIS. — Recherches sur les pyrophosphatases végétales. I et II. *Enzymologia*, 1937, 1, pp. 377-395, et 1938, 5, p. 254.

Essai préliminaire. — Dans un flacon de 60 Cm³, préalablement stérilisé à l'étuve à 100° nous introduisons :

Macération fermentaire au 1/10°.....	5 Cm ³
Acide citrique à 5 %	1 Cm ³ 7
Eau distillée	Q. S. 50 Cm ³

Le pH du mélange est de 5,6.

Nous bouchons le flacon au liège et le laissons à l'étuve à + 37° pendant six heures en présence de 0,25 Cm³ de toluène.

Au bout de ce temps, on transvase le produit de la réaction dans une fiole conique de 125 Cm³, on ajoute 30 Cm³ de mixture magnésienne (formule TREADWELL) et 15 Cm³ d'un mélange à volumes égaux d'acide acétique cristallisable et d'acétate d'ammoniaque officinal. On porte aussitôt la fiole sur un bain-marie bouillant, et on l'y maintient durant trente minutes. Les protéines flocculent. Le mélange est filtré chaud et lavé en deux fois avec 40 Cm³ d'eau. Le filtrat est alcalinisé par NH³ jusqu'à teinte rouge à la phtaléine (notons qu'habituellement la phtaléine donne une teinte violette ; la macération de *Leucæna glauca* renferme certains constituants qui modifient cette couleur).

On laisse reposer pendant vingt-quatre heures à la température ordinaire ; le phosphate ammoniaco-magnésien, qui a cristallisé sur les parois de la fiole, est alors recueilli et dissous dans 5 Cm³ d'NO³H dilué au quart, et, finalement, dosé par la méthode de COPAUX.

Cet essai préliminaire nous a montré que 1 mgr de P²O⁵ a été libéré dans les 50 Cm³ de l'expérience.

Ce résultat étant trop faible pour que l'on puisse étudier les variations de l'activité diastasique sous l'influence du pH, nous avons recommencé les expériences avec 15 Cm³ de liquide fermentaire et en laissant l'hydrolyse se prolonger vingt-quatre heures à l'étuve à + 37°.

Voici les résultats d'une série d'expériences faites à des

pH compris entre 4,8 et 7,6 obtenus par addition de quantités variables d'acide citrique à 5 % ou de OH Na N/10 :

Quantité d'acide citrique à 5 %	pH	Mgr. de P_2O_5
2 Cm ³ 5	4,8	5
1 Cm ³ 85	5,4	9,4
1 Cm ³ 75	5,6	10,4
1 Cm ³ 50	5,8	9,5
1 Cm ³	6	9,5
0 Cm ³ 75	6,2	7,5
Na OH N/10		
3 Cm ³	7,6	4,2

Le substrat est une solution M/6 à 74 gr. 33 % de pyrophosphate tétrasodique, $P_2O_7Na_4$, 10 OH², purifié par deux cristallisations successives pour éliminer le plus complètement possible l'orthophosphate, assez abondant dans le sel commercial. La solution du pyrophosphate dans l'eau distillée stérile est effectuée à la température ordinaire pour éviter son hydrolyse. Elle doit être conservée sous toluène à la glacière.

Le mode opératoire est le même que pour l'étude de la β -glycérophosphatase. La séparation des protéines, par la mixture magnésienne au bain-marie bouillant, s'accompagne d'une précipitation abondante de pyrophosphate de magnésium souille de magnésie.

L'hydrolyse propre du substrat n'est pas négligeable et il est indispensable de la doser à l'aide d'un témoin sans diastase.

Un essai préliminaire, effectué avec 5 Cm³ de solution fermentaire, six heures à l'étuve à + 37°, ne nous ayant

donné pour un $\text{pH} = 5,7$, que 2 mgr. de P^2O_5 . nous avons fait une série d'expériences avec 15 Cm^3 de liqueur fermentaire, six heures à l'étuve à $+ 37^\circ$:

M		
Sol. — de pyrophosphate de sodium		10 Cm^3
6		
Acide citrique à 5 %	Quantités variables	
Macération fermentaire au $1/10^{\circ}$	5 Cm^3	
Eau distillée	Q. S.	50 Cm^3

Quantité d'acide citrique à 5 %	pH	Mgr. de P^2O_5
10 Cm^3	3	3
4 Cm^3	4	3
3 Cm^3	5	10
2 Cm^3 5	5,4	10
2 Cm^3 3	5,6	10,5
2 Cm^3 1	5,8	11,5
1 Cm^3	6,15	7
OH Na N/10		
1 Cm^3	7,5	6

III. — Etude de la phytase:

Pour étudier l'action des graines de *L. glauca* sur l'inositolphosphate, nous préparons une solution à 50 % de phytine CIBA. 10 gr. de celle-ci sont dissous dans 100 Cm^3 de ClH à 5 % en volume, additionnés de soude diluée jusqu'à l'apparition d'un léger trouble persistant et la solution amenée à 200 Cm^3 par addition d'eau distillée ; cette solution contient environ 16 milligrammes de P^2O_5 organique par Cm^3 .

La technique suivie est toujours la même que dans les expériences précédentes. Nous mélangeons les substances selon les propositions suivantes :

Solution d'inositolphosphate	10 Cm ³
Macération fermentaire au 1/10 ^e	15 Cm ³
Acide citrique à 5 % ou soude N/10 Q. S. p ^r pH déterminé	
Eau distillée	Q. S. 50 Cm ³

et laissons à l'étuve trois jours à + 37°, car la phytase est une diastase à action très lente.

L'alcalinité entraîne la précipitation de la phytine, mais ce phénomène n'entrave en rien la marche de l'expérience. Comme la phytine n'est pas éliminée par la mixture magnésienne en milieu acide, elle précipite en même temps que le phosphate ammoniaco-magnésien lorsque l'on alcalinise par NH³. Elle est dissoute en même temps que ce dernier dans NO³H dilué, et ne perturbe pas le dosage, mais il est nécessaire d'utiliser un excès de solution de molybdate de sodium, l'inositolphosphate soustrayant une partie du molybdène du milieu pour donner des complexes molybdiques (J. LANGE ⁽⁸⁾).

Le tableau suivant résume les résultats de notre série d'expériences :

Quantité de NaOH N/10	pH	Mgr. de P ² O ⁵
1 Cm ³	4	3
2 Cm ³ 5	5	6,5
3 Cm ³ 5	5,2	8
4 Cm ³	5,3	8,2
4 Cm ³ 5	5,4	9
5 Cm ³	5,5	10
7 Cm ³ 5	5,8	6
8 Cm ³	5,8	4
témoin		
7 Cm ³ 5	5,8	1,5

En résumé, si la graine de *Leucæna* contient une phy-

(8) Jacques LANGE. — *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1933.

tase relativement active, ses activités β -glycérophosphatase et pyrophosphatase sont relativement très faibles; nous retrouvons ici la différence entre l'activité phytasique d'une part, les activités glycérophosphatase et pyrophosphatase d'autre part, que signalent COURTOIS et FLEURY et COURTOIS (9).

Comme pour les autres phosphatases des graines, le pH optimum se trouve aux environs de 5,6 pour les trois substrats, ce qui permet de placer la phosphatase des graines de *Leucæna* dans le groupe A² de FOLLEY et KAY (10).

(9) J. COURTOIS, P. FLEURY et J. COURTOIS. — *Loc. cit.*

(10) S. J. FOLLEY et H. D. KAY. — *Loc. cit.*

CONCLUSIONS

Après avoir décrit le genre *Leucæna* et plus spécialement l'espèce *L. glauca*, nous avons rappelé les caractères botaniques de cette dernière et nous avons exposé ses diverses utilisations : comme arbre d'ombrage et plante brise-vent, comme plante fourragère, etc... Puis nous en avons donné, avec dessins à l'appui, une étude histologique aussi complète que possible, d'après les matériaux en notre possession.

L'étude chimique du *L. glauca* n'avait porté, jusqu'ici, que sur la détermination de la teneur en glucides, en graisses, en matières azotées, en éléments minéraux et sur l'analyse des cendres des feuilles. M. MASCRÉ avait extrait des graines de ce *Leucæna* un principe amino-phénolique nouveau qu'il avait appelé leucaenol.

Nos recherches chimiques ont consisté en une étude plus profonde, plus précise, encore qu'incomplète, de la composition de la graine.

La graine de *Leucæna glauca* ne renferme pas d'amidon ; elle est riche en mucilage, celui-ci provenant de la transformation de l'albumen. Nous avons caractérisé dans les produits d'hydrolyse du mucilage : xylose, mannose, galactose, acides uroniques. La proportion des xylanes est de 3,20 % ; celle des mannanes correspond à 44 % de mannose ; celle des galactanes est de 27 %. L'indice de méthoxy, à peu près nul, indique que ce mucilage est d'origine cellulosique.

La graine renferme une très petite quantité de sucres réducteurs : 0 gr. 055 pour 1000 gr. (exprimés en glucose) : après hydrolyse acide, le taux des sucres réducteurs atteint

4 gr. 95 pour 100 gr. D'après le calcul des indices biochimiques, on peut supposer que l'on est en présence d'un mélange de saccharose d'une part, de stachyose ou de raffinose d'autre part, mais tous nos essais pour obtenir ces sucres à l'état cristallisé ont échoué.

La graine de *Leucæna glauca* renferme 5,50 % de matière grasse : les acides gras libérés par saponification sont formés : pour 31 % par des acides gras saturés, pour 69 % d'acides gras non saturés. Nous avons pu caractériser : à côté de traces d'acide linoléique, l'acide linoléique et l'acide oléique (respectivement 14 et 30 % des acides non saturés), l'acide stéarique et l'acide arachidique. Dans l'insaponifiable, nous avons caractérisé le sitostérol d'ANDERSON.

L'étude des protides nous a conduit aux résultats suivants : les amandes de *Leucæna glauca* cèdent à l'eau distillée : 2 gr. 25 % de matières protéiques rapportées au poids de la matière sèche ; elles en cèdent respectivement 12,31 % et 12,62 % à des solutions de ClNa à 5 et à 10 % ; 20,68 % à une solution de OH Na à 0,5 %. Cela indiquerait, dans ces amandes, la présence simultanée d'albumines variées, de globulines et de glutélines. Nous n'avons pu, faute de temps, séparer ces diverses fractions, nous avons seulement extrait une petite quantité de globuline.

Les graines de *L. glauca* renferment 0,57 % de P^2O_5 ; 21,7 % du P^2O_5 se trouvent sous forme de P lipidique, 17,5 % sous forme de P nucléoprotéidique, 29,8 % sous forme de P phytinique, 10 % sous forme de P minéral.

L'analyse des cendres ne mérite aucune observation particulière ; nous y avons dosé les éléments suivants : Cl , SO_4 , Si O_2 , Fe , Cu , Ca , Mg , K , Na .

Enfin, nous avons terminé notre étude par la caractérisation des diastases suivantes : oxydase, séminase, uréase, phosphatases. Pour ces dernières, nous avons étudié de plus près leurs conditions d'action.

Nous avons voulu, dans ce travail, examiner les divers groupes de constituants de la graine de *Leucæna glauca*. La composition générale de la graine est ainsi établie ; nous pensons que, sur quelques points, des compléments peuvent être souhaités, qui préciseront certains points. Nous espérons, malgré les lacunes de ce travail, avoir accompli œuvre utile en faisant réaliser des progrès sensibles à la connaissance chimique d'une graine maintenant abondante en raison de l'extension de l'emploi du « lam-toro ».

On a vu que l'utilisation de la plante (graine ou feuille), dans l'alimentation des animaux, n'était pas sans quelques inconvénients, sur la réalité desquels d'ailleurs, l'accord n'est pas fait. Peut-être ces inconvénients résultent-ils de l'action du leucæenol ? Ces réserves faites, il n'est pas douteux que par sa richesse en protides, la graine de *Leucæna glauca* peut prendre une part importante dans l'alimentation des animaux, mais elle apporte peu de glucides (en particulier, elle n'apporte pas d'amidon), et peu de matière grasse. Elle constituera donc surtout un aliment azoté.

Vu :

Vu :

LE DOYEN :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :

A. DAMIENS.

M. MASCRÉ.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

G. ROUSSY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BALLY (W.). — Sur la culture comparative du Caféier d'Arabie et du Caféier Robusta à Java. *Revue de Botan. appl.*, 1932, **12**, pp. 596-598.
- BEGEMANN (H.). — Beschädigungen der Kaffeepflanzen durch Schildläuse. *Der Tropenpflanzer*, 1930, **33**, pp. 202-203.
- BENTHAM (G.). — Notes on Mimoseae, with a short Synopsis of Species. *Hooker's Journ. of Botany*, London, 1842, **4**, pp. 323-418.
- BERNARD (Ch.). — Les engrais verts dans les cultures tropicales. *Bull. Econom. de l'Indochine*, déc. 1927, **30**, N° 12, pp. 958-959.
- BERTRAND (G.). — Dosage des sucres réducteurs. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1907, **14**, pp. 7-18.
- BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — Guide pour les manipulations de Chimie biologique. Paris, Dunod et Pinat, édit., 1919.
- BLONDELEAU et ROCHETTE. — Sur les essais de plantes de couverture effectués à la Station expérimentale du Palmier à huile de La Mé. *Bull. mens. de l'Agence économ. de l'A. O. F.*, 1929, 10^e ann. N° 99, pp. 77-85, et : *Revue de Botan. appl.*, 1930, **10**, p. 72.
- BOUGAULT (J.). — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1917, (7^e s.), **16**, pp. 97-110.
- BOURQUELOT (Em.). — Etude chimique et physiologique de la graine de Canéficier. *Vol. jubil. de la Soc. de Biol.*, 1900, p. 338.
- BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux. Sa présence dans deux graines de Légumineuses, *Erythrina fusca*, Lour, et *Entada scandens*, Benth. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6^e s.), **30**, pp. 162-167.

- BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur la composition de l'albumen de la graine de Caroubier (I et II). *C. R. Ac. Sc.*, 1899, **129**, pp. 228-231 et 391-393. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1899, (6^e s.), **10**, pp. 153-160 et 249-255.
- Sur le dosage du mannose mélangé à d'autres sucres. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1900, (6^e s.), **10**, pp. 206-209.
- Les hydrates de C de réserve des graines de Luzerne et de Fenugrec. *C. R. Ac. Sc.*, 1900, **130**, pp. 731-733 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, 1900, (6^e s.), **11**, pp. 589-595.
- BRIDEL (M.) et BOURDOUIL (Mlle C.). — Sur l'évolution des glucides au cours de la formation de la graine de deux variétés de Pois. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, pp. 215-222.
- BRILL (H. C.). — Ipel, a Coffee substitute : *Leucaena glauca* (L.) Benth. *Philipp. Journ. of Science*, 1916, **11** A., p. 101, et : *Pharm. Journ.*, 1917, (4^e s.), **44**, p. 319.
- BRIZIOLI (F.). — Plante da remboschimento, copertura del tereni e sovescio per le regione delle pendici orientali dell' Eritrea. *Agric. Colon.*, Florence, 1930, **24**, pp. 114-126, in : *Revue de Botan. appl.*, 1930, **10**, p. 774.
- CASTILLE (A.) et RUPPOL (Mlle E.). — Essais de purification du sitostérol. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, pp. 1716-1730.
- CHATRON (Maxime). — Etude de deux microméthodes de dosage de l'ion SO_4 . Application au dosage du soufre sanguin. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1930.
- CHEVALIER (Aug.). — Les Mimosées arborescentes pour l'ombrage des cultures tropicales. *Revue de Botan. appl.*, 1924, **4**, pp. 677-678.
- CHEYMOL (Jean). — Sur la composition chimique de la racine de *Geum urbanum* L. *Thèse Doct. Univ. Paris (Pharm.)*, 1927.
- COLIN (Yves). — Recherches techniques sur la séparation et le dosage des principes immédiats phosphorés des graines. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1935.
- COSTY (P.). — Uréase et urée chez les champignons supérieurs. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1923.
- COURTOIS (Jean). — Hydrolyse comparée des acides α et β -glycérophosphoriques par diverses phosphatases végétales. *IV^e Congrès de Chim. biol.*, 1934, p. 389.
- Recherches sur les phosphatases végétales. Contribution à l'étude de « l'affinité » d'une diastase vis-à-vis de substrats différents. *Thèse Doct. Sc. phys.*, Paris, 1938.

- CRÉTÉ (L.). — Le nété (*Parkia africana* R. Br.) et quelques autres *Parkia* de l'Afrique Occidentale. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1910.
- DECARY (R.). — Nouvelles cultures entreprises dans l'Extrême Sud de Madagascar. *Revue de Botan. appl.*, 1932, **12**, pp. 195-197.
- FLEURY (P.) et COURTOIS (J.). — Recherches sur les pyrophosphatases végétales. I. Etude comparative des cinétiques d'hydrolyse dans diverses conditions. *Enzymologia*, 1937, **1**, pp. 377-395.
- Recherches sur les pyrophosphatases végétales. II. Activités glycérophosphatasique et pyrophosphatasique de diverses préparations fermentaires d'Amande. *Enzymologia*, 1938, **5**, pp. 159-212.
- FOLLEY (S. J.) et KAY (H. D.). — The Phosphatases. *Ergebn. der Enzymforschung*, 1936, **5**, pp. 159-212.
- FRONTOU (G.). — La culture du Caféier en Annam. *L'Agronomie coloniale*, mai 1937, **26**, N° 233, pp. 142-145.
- GAGNEPAIN (F.), in : LECOMTE (H.). — Flore générale de l'Indochine. Paris, II, 1908, pp. 73-75.
- GATES (Frank C.). — Xerofotic movements in leaves. *Botanical Gazette*, 1916, **61**, pp. 339-407.
- GETHIN-JONES (G. H.). — Lutte contre l'érosion et conservation de la fertilité des sols dans les plantations de caféiers. *East afric. Agric. Journ.*, 1936, I, p. 456, in : *Revue de Botan. appl.*, avril 1937, **17**, pp. 292-293.
- GODFRIN (J.). — Recherches sur l'anatomie comparée des cotylédons et de l'albumen. *Ann. Sc. nat., Botanique*, 1884, (6^e s.), **19**, pp. 5-158 (*passim*).
- GONNARD (Pierre). — L'indice de méthoxyle. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1937.
- GORET (Maurice). — Etude chimique et physiologique de quelques albumens cornés de graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1901.
- GRESHOFF (M.), SACK (J.) et VAN ECK (J. J.). In : KONIG (J.) et BOMER (A.). — Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs und Genussmittel, 4^e édit., Berlin, I, 1903, p. 14.
- HEHNER (Otto) et MITCHELL (C. A.). — Contribution to the Chemistry of drying Oils ; with a method for the examination of Linseed Oil. *The Analyst*, 1898, **23**, pp. 310-318.

HEIM DE BALSAC (H.). — A propos de l'utilisation du *Leucaena glauca*. Son action épilante sur le bétail. *L'Agronomie coloniale*, avril 1933, **22**, N° 184, pp. 132-133.

HÉRISSEY (H.). — Sur l'hydraté de carbone de réserve de la graine de *Trifolium repens*. *C. R. Ac. Sc.*, 1900, **130**, pp. 1719-1721.

— Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1903.

HÉRISSEY (H.) et SIBASSIÉ (R. J.). — Recherches biochimiques sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine, contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, pp. 759-769.

HINGLAIS (Mme M.). — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes des Vertébrés. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1928.

HOLLAND (T. H.). — *Ceylon Agriculture Department*, 1922.

HOWES (F. N.). — Variability in stock poison plants. *Kew Bull. of miscell. Informat.*, 1933, N° 7, pp. 305-319, et : *Revue de Botan. appl.*, 1934, **14**, pp. 289-290.

HÜBL. — Détermination de l'indice d'iode. (D'après LEWKOWITSCH, 2^e édit. franç., 1929, I, pp. 587-604.)

HUTCHINSON (J.) et DALZIEL (J. M.). — Mimosaceae, in : *Flora of west tropical Africa*. London, I, 1928, pp. 351-364.

JANOT (M.-M.) et GONNARD (P.). — Indice de méthoxyle de quelques gommés et en particulier des gommés arabique et adragante. *C. R. Ac. Sc.*, 3 oct. 1938, **207**, pp. 594-597, et : *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1938, **45**, pp. 396-398.

JEANSSENS (Paul). — Le café Robusta dans l'Angola. 1 broch., Bruxelles, 1930, et : *Revue de Botan. appl.*, 1930, **10**, pp. 762-763.

LANGE (Jacques). — Action de l'acide periodique sur les polyalcools (réaction de MALAPRADE). Généralisation, extension aux corps voisins. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1933.

LEGROS (J.). — Le café dans les possessions françaises. *Revue internat. d'Agric.*, Rome, juin 1937, **28**, pp. 166 et 172 T.

- LEWKOWITSCH (J.). — Technologie et analyse chimiques des huiles, graisses et cires. 2^e édit. franç., par Em. BONTROUX, Paris, Dunod, édit., I et II, 1929, pp. 301-305, 587-604, 776-787, etc.
- LOHMANN (K.). — Ueber das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat in Zellen (II et III). *Biochem. Zeitschr.*, 1928, **203**, pp. 164-171 et 172-207.
- MAAS (J.). — Kiemproeven met zaden van verschillende groenbesters. *Mededeel. alg. Proefstation*, alg. serie, N^o 27, p. 1026.
- MALLAMAIRE (A.). — Sur quelques pourridiés en Côte d'Ivoire. *Revue de Botan. appl.*, 1935, **15**, p. 605.
- MASCRÉ (M.). — Le leucaenol, principe défini retiré des graines de *Leucaena glauca*, Benth. *C. R. Ac. Sc.*, 1937, **204**, pp. 890-891.
- MAY (R. R.). — Remarques sur le rajeunissement des vieilles plantations de caoutchouc. *Revue de Botan. appl.*, avril 1934, **14**, pp. 285-289.
- MEYER (H.). — Analyse et détermination de la constitution des composés organiques. Première édit. trad. par M. BERNHEIM, Paris, Albin Michel, édit., 1924, I et II, pp. 229, 888-892, etc.
- MICHEL-DURAND (E.). — Sur une nouvelle méthode de séparation et de dosage de la phytine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, pp. 413-422.
- MORRIS. — Le *Leucaena glauca* (tamarin sauvage) faisant tomber les poils des animaux qui s'en nourrissent. *Rundschau für prakt. Aerzte*, 1897, p. 340, in : *Répert. de Pharm.*, 1897, (3^e s.), **9**, p. 364.
- NACHMANSOHN (D.). — Action des substances sympathomimétiques et parasympathomimétiques sur les processus chimiques fournissant l'énergie de la contraction musculaire. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, pp. 453-459.
- NADELMANN (Hugo). — Ueber die Schleimendosperme der Leguminosen. *Pringsheim Jahrb. für wiss. Botanik*, 1890, **21**, pp. 609-691.
- NEMEC (Antonin). — Zur Kenntnis der Glycerophosphatase der Pflanzensamen. *Biochem. Zeitschr.*, 1923, **138**, pp. 198-204.

- OSBORNE (Thomas B.) et STRAUSS (E.). — Einfache Eiweissstoffe, Proteine, in : ABDERHALDEN (E.), *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. Berlin-Wien, I, 8, 1922, pp. 383-454.
- PARIS (R.). — Action de diverses substances organiques volatiles sur quelques glucidases *in vivo* et *in vitro*. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1935, p. 40.
- PATEIN (G.) et DUFAU (E.). — De l'emploi du nitrate acide de mercure dans l'analyse des liquides sucrés. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1902, (6^e s.), 15, pp. 221-226.
- PIAULT (Lucien). — Sur le stachyose, sa recherche et sa présence générale dans la famille des Labiées. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1910.
- POLONOVSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Précis de Chimie biologique organique, Paris, Masson et Cie, édit., 1934.
- PRILLWITZ (P.-M.). — Behandelning van Leguminosenzaden met zwavelzuur (Traitement des graines de Légumineuses par l'acide sulfurique). *De Thee*, 1926, 7, p. 136-143, in : *Revue de Botan. appl.*, 1928, 8, p. 83.
- RIGOTARD (M.). — Une Légumineuse tropicale : *Leucæna glauca* et son utilisation. *L'Agronomie coloniale*, juin 1932, 21, n° 174, p. 198-202.
- RISBEC (J.). — Les parasites du caféier en Nouvelle-Calédonie. *L'Agronomie coloniale*, oct. 1936, 25, n° 226, p. 105-109.
- ROME (A.). — Aperçus sur la culture du caféier en Indochine française. *Revue de Botan. appl.*, 1935, 15, pp. 525-531.
- SIBASSIÉ (R.-J.). — Recherches sur les glucides contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1927.
- SORNAY (P. DE). — Les plantes tropicales alimentaires et industrielles de la famille des Légumineuses. *Bibliothèque d'Agriculture coloniale*, Paris, 1913, p. 330-333.
- SUTU (Zaharie). — Recherches sur deux méthodes de dosage de l'acide phosphorique. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1926.
- TANRET (G.). — Sur la présence du stachyose dans le Haricot et les graines de quelques autres Légumineuses. *Bull. Soc. chim.*, 1913, (4^e s.), 13, p. 176-182.
- VARRENTTRAPP (Franz). — Ueber die Oelssäure. *Ann. der Chemie*, 1840, 35, p. 197-215, et dans LEWKOWITSCH (J.), 1929, I, p. 776-778.

VILLÈLE (Aug. DE). — Le *Leucæna glauca* et son action épilante sur le bétail. *L'Agronomie coloniale*, nov. 1933, **22**, n° 191, p. 151-153.

WILDEMAN (Em. DE). — La théorie de l'hybridation et J. P. LOTSY (1867-1931). *Revue de Botan. appl.*, 1934, **14**, p. 203.

XXX (ANONYME). — Recent trials with Pineapples. *Ceylon Dep. Agr. Leaflet*, 1927, et : *Revue de Botan. appl.*, 1928, **8**, p. 87.

ZELLER (Max). — Etude sur la composition chimique du style de Maïs. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1937.



IMPRIMERIE SPECIALE
DE
MM. VIGOT Frères



